

GENETISCHE BEEINFLUSSUNG
DER LÖSLICHEN PROTEINE DES HORNS
VON RINDERKLAUEN

Heribert Raschel

1980



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Tierzucht und Tierhygiene
Lehrstuhl für Tierzucht
der Tierärztlichen Fakultät der Universität
München
Vorstand: Prof. Dr. H. Kräußlich

GENETISCHE BEEINFLUSSUNG DER LÖSLICHEN PROTEINE
DES HORNS VON RINDERKLAUEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München
von
Heribert Raschel
aus
München

München 1980

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. J. von Sandersleben

Referent: Prof. Dr. H. Kräußlich

Korreferent: Prof. Dr. Dr. F. Bakels



Tag der Promotion: 25 - Juli - 1980

Meinen Eltern

Arbeit gefördert von der Tierzuchtforschung e. V.,
München

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1. Einleitung	1
2. Literatur	
2.1. Zur Morphologie der Rinderklaue	2
2.2. Bestandteile des Horns	3
3. Material	7
4. Methodik	
4.1. Die Diskelektrophorese	
4.1.1. Das Prinzip der Diskelektrophorese	8
4.1.2. Die Durchführung der Diskelektrophorese	9
4.1.3. Die Auswertung	14
4.2. Methode Matoltsy	15
4.3. Übertragung der Methode Matoltsy auf Rinderklauen	16
4.4. Probenbehandlung	
4.4.1. Hornpulverisierungsmaschine	17
4.4.2. Probengewinnung und -behandlung	20

4.5.	Ermittlung des optimalen Extraktionsverhältnisses	21
4.6.	Ermittlung der optimalen Trenngelkonzentration	25
4.7.	Die optimale Stromstärke	30
4.8.	Vergleichbarkeit der Banden	31
4.9.	Wahl der Färbemethode	34
4.10.	Endgültige Methode	37
4.11.	Die Wiederholbarkeit	
4.11.1.	Die Wiederholbarkeit in der Serie	38
4.11.2.	Die Wiederholbarkeit von Tag zu Tag	40
5.	Ergebnis	
5.1.	Zur Auswertung und Nomenklatur der löslichen Proteine	42
5.2.	Unterschiede zwischen den Extremitäten	44
5.3.	Die Auswertung der Proteine als qualitatives Merkmal	
5.3.1.	Absolute und relative Häufigkeit der einzelnen Proteine	47

5.3.1.1. Der Einfluß der Rasse	49
5.3.1.2. Der Einfluß der Haltung	50
5.3.1.3. Der Einfluß der Lokalisation	51
5.3.1.4. Der Einfluß der Nachkommengruppe	52
5.3.2. Der Einfluß des Körpergewichts	54
5.3.3. Der Einfluß der Jahreszeit	56
5.3.4. Die Anzahl der löslichen Proteine pro Tier	58
5.3.5. Kombinationen	
5.3.5.1. Proteinemuster	60
5.3.5.2. Die Zweierkombinationen der löslichen Proteine	65
5.3.5.3. Die Dreierkombinationen der löslichen Proteine	67
5.4. Die Auswertung der Proteine als quantitatives Merkmal	
5.4.1. Die Mittelwerte der löslichen Proteine	69
5.4.2. Verteilung der Proteine A - L	70
5.4.3. Der Einfluß von Rasse, Haltung und Lokalisation	76
5.4.4. Der Einfluß der Nachkommen- gruppen	76

5.4.5.	Der Einfluß des Körpergewichts	77
5.4.6.	Der Einfluß der Jahreszeit	78
6.	Diskussion und Schlußfolgerungen	
6.1.	Die löslichen Proteine als qua- litatives Merkmal	81
6.2.	Die löslichen Proteine als quan- titatives Merkmal	86
6.3.	Schlußfolgerungen	87
7.	Zusammenfassung	88
8.	Summary	91
9.	Literatur	93

1. Einleitung

Durch die modernen, einstreulosen Haltungssysteme haben sich die an Rinderklauen gestellten Anforderungen geändert. Nach Günther (1968) ist das Klauenhorn auf Gitterrost hart und spröde, es liegt ein geringer Wassergehalt vor, bei der Laufstallhaltung dagegen weich und elastisch, es liegt ein hoher Wassergehalt vor. Aus den Untersuchungen von Schneider (1979) geht hervor, daß der Klauenabrieb, d.h. die Klauenstabilität, mit dem Wassergehalt korreliert ist. Ein zu hoher Wassergehalt führt ebenso wie ein zu niedriger zur Mazeration des Horns und macht es somit für Keimbesiedlung anfällig.

Knezevic (1961), Breuer (1964), sowie Kirste (1965) kamen übereinstimmend zu der Auffassung, daß Klauenschäden beim Rind sowohl zu hohen Milch- und Fleischverlusten als auch zu Zuchtausfällen führen, wodurch insgesamt ein großer volkswirtschaftlicher Schaden entsteht.

Des weiteren ist auch an den Export zu denken; die Tiere werden dann oft unter extensiven Weidebedingungen gehalten, wobei die Klauen einer starken Abnützung unterliegen, so daß es frühzeitig zu Klauenschäden und zur Leistungsminderung der Tiere kommen kann (Pflug, 1978). Berücksichtigt man diese Zusammenhänge, so ergibt sich, daß dem Problem der Klauenstabilität eine höhere Bedeutung zukommt als bisher angenommen.

Matoltsy (1963) gelang es mit Hilfe einer modifizierten Methode der Diskelektrophorese, unter anderem auch in menschlichen Nägeln lösliche Proteine nachzuweisen. Dies war der Anlaß für die Vermutung, daß auch im Klauenhorn lösliche Proteine nachzuweisen seien.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, festzustellen, ob im Horn von Rinderklauen neben dem unlöslichen Protein Keratin weitere lösliche Proteine enthalten sind und ob bezüglich dieser löslichen Proteine genetisch bedingte Unterschiede vorliegen.

Ferner interessiert, ob zwischen den zwei Haltungsförmern Teilspaltenboden und Vollspaltenboden Unterschiede vorliegen.

2. Literatur

2.1. Zur Morphologie der Rinderklaue

Zietschmann (1918) kam auf Grund vergleichender Unter-

suchungen zu der Erkenntnis, daß es sich bei Huf, Klaue, Kralle und Nagel um homologe Organe handelt.

Nach Wilkens (1964) stellt die Rinderklaue eine besondere Form des Hufes dar, zeigt jedoch im Gegensatz zum Pferdehuf unilaterale Symmetrie. An jeder Rinderextremität sind zwei Hauptklauen und zwei Afterklauen ausgebildet.

An jeder Klaue differenziert man die zentralen Stützteile und den Hautüberzug. Der epidermale Klauenschuh ist verhornt und setzt sich aus Platte, Sohle und dem Ballen zusammen.

Die Klauenepidermis stellt ein mehrschichtiges Plattenepithel dar, das stark verhornt ist und somit aus Keratin besteht.

2.2. Bestandteile des Horns

Keratin, der Hauptbestandteil von Horn, wird zu den Skleroproteinen, den wasserunlöslichen Eiweißen gerechnet. Im Gegensatz dazu stehen die wasserlöslichen globulären Proteine.

Keratine kommen in der Epidermis, in Wolle, in Vogelfedern, im Huf, in Klauen, in Krallen, in Nägeln und in allen anderen aus der Epidermis hervorgegangenen Gebilden vor.

Die Struktur des Keratins und des mehrschichtigen Plattenepithels ist eingehend untersucht, über den chemischen Aufbau dagegen besteht noch keine vollständige Klarheit.

Lindley (1947) untersuchte Schafwolle, sowohl unbehandelt als auch mit verschiedenen Lösungsmitteln behandelte. Er stellte eine unterschiedliche Aminosäurezusammensetzung in unbehandelter Wolle, Rückstand und Lösung fest. Daraus schloß er auf verschiedene Formen des Keratins.

Block (1951) versuchte eine chemische Klassifizierung des Keratins vorzunehmen. Er beschrieb Keratin als unverdaubar, unlöslich in Wasser, Säuren, Laugen und organischen Lösungsmitteln und unterschied zwei Gruppen von Keratin mit denselben physikalischen Eigenschaften: die sogenannten Eukeratine, die neben anderen Aminosäuren auch Histidin, Lysin und Arginin enthalten, sowie die Pseudokeratine, die unter anderem durch das Fehlen dieser drei Aminosäuren gekennzeichnet sind. Des weiteren machte er auch von Klauen und Nägeln Aminosäureanalysen, wobei er deutliche Unterschiede fand.

Ward und Lindgren (1954) stellten fest, daß Keratin vollständig aus Proteinen besteht, die durch Disulfid- und Wasserstoffbrückenbindungen verknüpft sind. Sie verglichen das Aminosäuremuster des Keratins mit dem anderer Proteine.

Matoltsy und Balsamo (1955), sowie Matoltsy und Herbst (1956) untersuchten die menschliche Haut; sie fanden neben unlöslichen Komponenten auch lösliche Bestandteile. Matoltsy (1963 und 1964) untersuchte die Oberhaut des Flotzmauls, sowie Haare und Nägel. Im Flotzmaul konnte er zehn, in Haaren und Nägeln zwei lösliche Proteine nachweisen.

Thompson und O'Donnell (1964) beschäftigten sich ebenso wie Harrap und Gillespie (1963) mit Wolle. Sie versuchten Proteine zu extrahieren und konnten zahlreiche Komponenten nachweisen.

Von Gillespie (1962 - 1964) existieren zahlreiche Veröffentlichungen über die Isolierung und Eigenschaften einiger löslicher Wollproteine. Er unterscheidet dabei zwei Gruppen: solche mit hohem und solche mit niedrigem Schwefelgehalt. Jede dieser Gruppen besitzt mehrere Vertreter. Des weiteren untersuchte er den Einfluß von Futterfaktoren, wie beispielsweise Kupfer, auf das Auftreten dieser löslichen Proteine und ihre Aminosäurezusammensetzung. Es gelang ihm, deutliche Einflüsse nachzuweisen.

Federn verschiedener Spezies untersuchte Woods (1971). Er fand wenigstens zehn lösliche Proteinkomponenten. Keine bestimmte Komponente war für alle Vogelarten charakteristisch.

Gillespie (1972) stellte fest, daß Säugetierkeratin Proteine mit hohem Glycin- und Tyrosingehalt enthält. Zwischen den verschiedenen Keratinen fand er quantitative Unterschiede, zwischen den Spezies qualitative, so daß die Banden, nach seiner Meinung, für die Identifizierung des Keratins von Wert sein könnten. Allerdings handelt es sich hierbei nicht um lösliche Proteine.

Gillespie und Frenkel (1974) schrieben folgendes über die Mannigfaltigkeit des Keratins: Die homologe Gruppe der Säugetierkeratine zeigt in ihrer Zusammensetzung eine extreme Vielfalt, insbesondere betreffs der Aminosäuren Cystin, Glutaminsäure, Glycin, Leucin, Prolin und Tyrosin. Keratin beinhaltet drei Proteintypen: Proteine mit niedrigem Schwefelgehalt, die in den Filamenten lokalisiert sind, Proteine mit hohem Schwefelgehalt und Proteine mit hohem Tyrosingehalt, die in der Matrix lokalisiert sind. Für die Struktur und Funktion der Keratine scheint die Anordnung und Verknüpfung der Proteine des Keratins mehr von Bedeutung zu sein, als ihre unterschiedlichen Konzentrationen.

Sie untersuchten dabei 24 verschiedene Keratine. Auch hier handelt es sich nicht um lösliche Proteine.

Marshal und Gillespie (1977) verglichen die Proteine mit niedrigem und hohem Schwefelgehalt aus Wolle, Horn und Klaue von Schafen, sowie die verschiedenen Keratine von anderen Arten, auch von Rind und Mensch, untereinander. Sie fanden heraus, daß zwischen den Keratinen einer Spezies keine qualitativen, sondern nur quantitative Unterschiede bestehen.

Maciejewska und Fröhlich (1977) gliederten das Klauenhorn in drei Zonen: hartes Horn, weiches Horn und weiße Zone. Sie untersuchten nun die löslichen Proteine in jeder dieser Zonen und stellten fest, daß Keratin von unidentifizierten löslichen Proteinen und freien Aminosäuren begleitet wird, Quantität und Qualität sind mit dem Grad der Keratinisierung vergesellschaftet, woraus sie folgerten, daß die löslichen Proteine für die Keratinisierung von Bedeutung seien.

3. Material

Den eigenen Untersuchungen liegt folgendes Material zugrunde: 421 Bullen der Rasse Deutsches Fleckvieh, die von 34 Vätern abstammen, sowie 90 Bullen der Rasse Braunvieh, die von 10 Vätern abstammen. Diese Söhne von Prüfbullen verschiedener bayrischer Besamungsstationen wurden in der Nachkommenprüfanstalt Westerschondorf ab dem 30. Lebensstag ($\pm$ 15 Tg) mit einem Ge-

wicht von 80 kg ($\pm$ 15 kg) aufgestellt. Ein Jahr lang wurden sie unter gleichen Fütterungs- und Haltungsbedingungen gehalten. In der Endmast ab dem 365. Tag stand ein Teil der Tiere in Boxen mit Vollspaltenboden und ein anderer in Anbindeställen mit Teilspaltenboden. Die Fütterung blieb in der Endmast unverändert. Während der gesamten Mastdauer erfolgte keine Klauenpflege. Am 500. Lebenstag kamen die Tiere in der Landesanstalt Grub zur Schlachtung.

4. Methodik

4.1. Die Diskelektrophorese

4.1.1. Das Prinzip der Diskelektrophorese

Matoltzky verwendete bei seinen Untersuchungen die Diskelektrophorese: hierbei werden als Elektrophoreseträger Polyacrylamidgele benutzt, die gegenüber dem Stärkegel den Vorteil der besseren Reproduzierbarkeit aufweisen. Ein weiterer Vorteil ist die Steuerbarkeit der Porengröße über die Trenngelkonzentration. Durch die Verwendung zweier verschiedener Gele, eines kleinporigen Trenngels und eines großporigen Sammelgels, die in jeweils anderen pH-Bereichen gepuffert werden, erklärt sich das, gegenüber der herkömmlichen Elektrophorese, hohe Auflösungsvermögen.

Es liegt also bei der Diskelektrophorese ein bezüglich des pH-Wertes, der Gelporengröße und der Pufferzusammensetzung diskontinuierliches Trennsystem (Maurer, 1968) vor.

Für die Trennung sind zwei Effekte verantwortlich:

- der Konzentrationseffekt, der darin besteht, daß die zu trennenden Substanzen vor der eigentlichen Trennung durch zwei wandernde Ionenfronten (Leit- und Folgeionen) konzentriert werden. Beim pH-Sprung vom Sammelgel zum Trenngel verändert sich der Dissoziationsgrad der Folgeionen, welche nun schneller wandern und somit die Proteine überholen, wodurch diese im Verlaufe des Trenngels aufgetrennt werden können.
- der Molekularsiebeffekt, wonach die einzelnen Moleküle elektrophoretisch nicht nur nach ihrer elektrischen Gesamtladung, sondern auch nach Größe (Molekulargewicht) und Gestalt (Tertiärstruktur) getrennt werden.

4.1.2. Die Durchführung der Diskelektrophorese

Bei den folgenden Angaben handelt es sich um die Bestandteile pro 100 ml Lösung. Alle Lösungen enthalten doppelt destilliertes Wasser als Lösungsmittel. Ihre Aufbewahrung erfolgt in braunen Flaschen bei

+ 4° C; vor dem Vermischen sollten sie Raumtemperatur aufweisen. Die Haltbarkeit der Lösungen beträgt 2 - 3 Monate; nur die Ammoniumperoxodisulfatlösung und die Saccharoselösung dürfen nicht länger als eine Woche gelagert werden. Da die Acrylamidlösungen Nr.2 und Nr.5 (siehe Tab.1 und 2) eine Trübung zeigen, werden sie stets 24 Stunden nach Herstellung filtriert. Unmittelbar vor Herstellung der Gele wird der pH-Wert der Lösungen Nr. 1 und Nr.4 überprüft und gegebenenfalls eingestellt.

Für die Herstellung des Trenngels werden die Lösungen aus Tabelle 1 benötigt:

Tabelle 1: Lösungen für die Herstellung des Trenngels

Lösung:	Bestandteile:	Menge:	pH-Wert:
1	1 N HCl Tris +) Temed +)	48,0 ml 26,0 g 1,23 ml	8,9
2	Acrylamid Bis +) für ein 7,5 % Trenngel	30,0 g 1,8 g	
3	Per +)	1,14 g	

 +) Tris = Trishydroxymethylaminomethan
 Temed = N,N,N',N' - Tetramethyläthylendiamin
 Bis = N,N' - Methylenebisacrylamid
 Per = Ammoniumperoxodisulfat

Für das Trenngel werden von der Lösung Nr. 1 ein Teil, von der Lösung Nr. 2 zwei Teile verwendet; zusätzlich ist ein Teil doppelt destilliertes Wasser erforderlich; die vier Teile der Lösung Nr. 3 werden erst unmittelbar vor dem Gelgießen zugefügt.

Zur Vermeidung von Luftblasenbildung im untersten Teil der Gelröhrchen wird jeweils ein Tropfen des Trenngelgemisches in die Gummiringe gegeben, die zur Aufnahme der Gelröhrchen bestimmt sind. Nun werden die Gelröhrchen in das Haltegestell eingeführt, worauf das Trenngelgemisch in jedes Röhrchen, bis etwa 0,5 cm über die Markierung, mit einer Pipette gefüllt wird. Um einen möglichst scharfen und geraden Übergang zwischen Trenn- und Sammelgel zu erzielen, wird nun die Trenngelmischung vorsichtig mit doppelt destilliertem Wasser überschichtet.

Die Polymerisation dauert 45 Minuten.

Für die Herstellung des Sammelgels werden die Lösungen der Tabelle 2 benötigt.

Tabelle 2: Lösungen für die Herstellung des
Sammelgels

Lösung:	Bestandteile:	Menge:	pH-Wert
4	H_3PO_4 (1 mol/l) Tris ⁺)	25,6 ml 5,7 g	6,9
5	Acrylamid Bis ⁺)	10,0 g 2,5 g	
6	Riboflavin	4,0 mg	
7	Saccharose	40,0 g	

Für das Sammelgel werden ein Teil der Lösung Nr. 4, zwei Teile der Lösung Nr. 5, ein Teil der Lösung Nr. 6 und vier Teile der Lösung Nr. 7 gemischt.

Nach der Polymerisation des Trenngels wird der darüberliegende Raum mehrmals mit Sammelgelgemisch gespült, worauf 0,3 ml des Sammelgelgemisches einpipettiert werden. Wiederum wird mit doppelt destilliertem Wasser beschichtet. Die Polymerisation des Sammelgels unter UV-Bestrahlung dauert 20 Minuten. Nun kann die zu untersuchende Probe eingefüllt werden.

Eine zweite Sammelgelschicht schließt die Gelröhrchen nach oben hin ab.

In der Zwischenzeit sollte die Elektrodenpufferlösung vorbereitet sein:

⁺) siehe Seite 10

Bestandteile pro 1 l Lösung:

Tris 6,0 g

Glycin 28,8 g

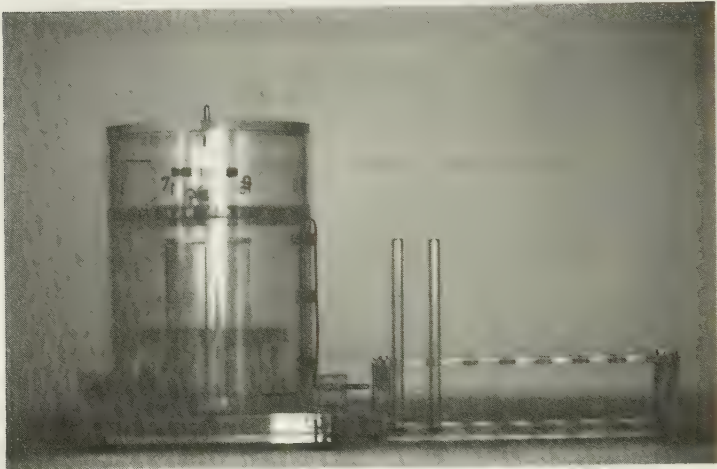
Der pH-Wert beträgt 8,3. Für den Gebrauch wird eine 10 %ige wässrige Lösung hergestellt.

Der untere Teil des Elektrophoresegefäßes wird möglichst luftblasenfrei mit Puffer gefüllt. Die Gelröhrchen werden in die Bohrungen des oberen Teiles eingeführt, und zwar so, daß etwa 2 - 3 cm in das obere Puffergefäß hineinragen. Nach dem Eintauchen des unteren Teils der Gelröhrchen wird Puffer in das obere Gefäß gegeben und die Elektroden werden mit dem Gleichstromnetzgerät verbunden. Die Stromstärke wird für die ersten zwei Minuten auf 1 mA pro Gel und dann auf 2 - 5 mA pro Gel eingestellt.

Nach der Elektrophorese werden die Gele durch Unterspülung mit eisgekühltem, destilliertem Wasser aus den Gelröhrchen herauspräpariert. Um die Proteine darzustellen, erfolgt eine Anfärbung mit proteinempfindlichen Farbstoffen. Der überschüssige Farbstoff kann entweder elektrophoretisch oder durch Auswaschen entfernt werden.

Abbildung 1 zeigt die Gerätschaften für die Durchführung der Diskelektrophorese.

Abb.1: Gerätschaften für die Durchführung der Disk-
elektrophorese



4.1.3. Die Auswertung

Da die Polyacrylamidgele transparent sind, kann die Auswertung der sich als Banden, bzw. Disken, darstellenden Proteine durch direkte Densitometrie erfolgen. Verwendung fand das Densitometer Typ PHI der Firma Vernon.

Für die Messung werden die Gele in für ihren Durchmesser passende Präparategläser gegeben, die mit verdünnter Essigsäure gefüllt sind. Der Prozentsatz der Essigsäure entspricht dem des Trenngels, da die Brechungsindici dann übereinstimmen.

4.2. Methode Matoltsy

Vorteil dieser modifizierten Methode ist es, daß sie gleichzeitig die Extraktion und Trennung der löslichen Proteine besorgt. Matoltsy zerkleinerte das verhornte Material in einer Wiley-Mühle und siebte es mit einem 60'er Maschensieb, das einem Prüfsieb mit 0,250mm Maschenweite entspricht. Die Proberöhrchen wurden mit einem Trenngel gefüllt, dessen optimaler Auflösungsbereich zwischen einem Molekulargewicht von 3×10^4 und 3×10^5 liegt, d.h. einem 7,5 %igen Gel; es folgte eine Schicht Sammelgel; nun wurden Glaskügelchen mit einem Durchmesser von etwa 0,2 mm in einer Dicke von ca. 2mm aufgetragen. Nach dem Einführen von etwa 2 - 5 mg Hornpulver folgte erneut eine Glaskügelchenschicht, welche schließlich mit einer zweiten Schicht Sammelgel bedeckt wurde.

Nachdem das Gel ausgehärtet war, wurden das obere und das untere Ende des Röhrchens in Triglycerinpuffer (pH = 8,5) getaucht und 5 mA an jedem Röhrchen angelegt. Bei menschlichen Fingernägeln trat eine

Extraktion der Proteine innerhalb von 20 Minuten ein, wobei sich nach Färbung mit Amidoschwarz zwei Proteinbanden zeigten.

4.3. Übertragung der Methode Matoltsy auf Rinderklauen

Zu Beginn der Untersuchungen wurde versucht, die von Matoltsy für menschliche Fingernägel entwickelte Methodik auf Rinderklauen zu übertragen. Alle dafür notwendigen Versuche wurden mit dem pulverisierten Horn der Klaue eines Rindes durchgeführt. Die gesäuberten und getrockneten Klauen wurden mit einer Saphirnagelfeile pulverisiert; nur das, das Feürsieb mit einer Maschenweite von 0,250 mm passierende Pulver fand Verwendung.

Dabei kam es zu folgenden Problemen:

- Eine Laufzeit von nur 20 Minuten (Matoltsy, 1963) erwies sich für das Horn von Rinderklauen zu kurz; es wurden Versuche mit einer Laufzeit von 30, 40, 60, 100, 120, 160 und 180 Minuten durchgeführt. Befriedigende Ergebnisse zeigten sich zwischen 120 und 180 Minuten. Bei allen folgenden Versuchen betrug die Laufzeit deshalb 150 Minuten.
- Eine Probemenge von 2 - 5 mg (Matoltsy, 1963) reichte für die Darstellung der löslichen Proteine in Rinderklauen nicht aus.

Zur Ermittlung der optimalen Probemenge wurden 5, 10, 15, 20 und 30 mg Hornpulver gleichzeitig elektrophorisiert. Bei 5 mg zeigte sich nur eine Bande. Bei 20 und 30 mg wurden die Banden vollständig von der Untergrundfärbung überdeckt. Bei 10 - 15 mg dagegen zeigten sich 6 Banden, so daß im weiteren Verlauf mit 10 mg Hornpulver gearbeitet wurde.

- Die densometrische Auswertung war wegen der sehr starken Untergrundfärbung nicht möglich. Zur Reduzierung der Untergrundfärbung wurde versucht, den überschüssigen Farbstoff elektrophoretisch, statt wie bisher durch Auswaschen in 10 %iger Essigsäure, zu entfernen. Die Folge war eine geringgradige Verringerung der Untergrundfärbung, die aber für die Auswertung noch nicht ausreichte. Deswegen mußte auf die mit der Methode Matoltsy mögliche gleichzeitige Extraktion und Trennung der löslichen Proteine verzichtet werden. Extraktion und Trennung wurden deshalb separat vorgenommen.

4.4. Probenbehandlung

4.4.1. Hornpulverisierungsmaschine

Bei der vorliegenden Arbeit kamen 511 Rinderklauen zur Untersuchung. Je Klaue wurden 70 mg Hornpulver

benötigt. Eine Pulverisierung per Hand wäre demnach zu aufwendig gewesen. Deshalb wurde eine Schleifmaschine entworfen und gebaut.

Folgende Bedingungen waren dabei zu erfüllen:

1. Bei Horn handelt es sich um ein zäh-elastisches, sehr widerstandsfähiges Material. Der Schleifkörper muß also bestimmte Anforderungen erfüllen:
 - hohe Widerstandsfähigkeit,
 - geringe Neigung zum Verschmieren,
 - die Körnung muß so sein, daß das entstehende Pulver das Prüfsieb passiert,
 - der Abrieb des Schleifkörpers, wie etwa Metallspäne oder Leim, muß, wegen eventueller störender Einflüsse auf die Elektrophorese, minimal bleiben.

Getestet wurden:

- Schleifscheiben, auf Leinen aufgezogen, in den Körnungen 100, 200 und 300. Die Scheiben waren nach etwa 10 Sekunden abgenutzt. Der Anteil des Abriebs war ebenso groß wie die Menge des gewonnenen Hornpulvers.
- Schleifkorund, der in kurzer Zeit verschmiert war und ebenfalls einen zu hohen Abrieb aufwies.
- Wolfram-Carbid-Schleifscheiben, bei denen kein makroskopisch nachweisbarer Abrieb auftrat; mit

einer Scheibe können ca 10 Klauen bearbeitet werden. Als optimal für den erforderlichen Zweck erwiesen sich also Wolfram-Carbid-Scheiben.

2. Proteine beginnen ab 40°C zu denaturieren; beim Schleifen darf demnach nur eine geringe Wärmeentwicklung stattfinden.

Der Probennachschub muß automatisch und mit einer bestimmten, einstellbaren Kraft erfolgen, die einerseits so hoch ist, daß genügend Material abgeschliffen wird, aber andererseits nicht so hoch sein darf, daß eine Denaturierung der Proteine durch Reibungshitze zu befürchten wäre.

Das Problem wurde durch Verwendung einer Antriebsmaschine mit elektronischer Drehzahlregulierung gelöst; diese hat den Vorteil, daß die Drehzahl nahezu unabhängig von der Andruckskraft zwischen 100 und 3.000 U/min. konstant gehalten wird. Der Probennachschub und damit auch der Andruck erfolgte durch eine Federwaage, die die auf einer drehbar gelagerten Haltevorrichtung befestigten Probestücke an die Schleifmaschine anpreßt. Dieser Aufbau erlaubte es, Drehzahl und Andruckskraft so zu kombinieren, daß keine schädigende Erwärmung stattfand. Der Schleifvorgang fand bei 400 U/min. statt. Die Andruckskraft betrug 2,5 N. Das Hornpulver wurde in einer V-förmigen Haltevorrichtung aufgefangen.

4.4.2. Probengewinnung und -behandlung

Die Proben wurden während der Schlachtung der Tiere in Grub, anlässlich der Nachkommenprüfung, gewonnen. Der Probenentnahme lag folgendes Schema zugrunde:

vorne links medial	-	vorne rechts lateral
hinten links lateral	-	hinten rechts medial

Von jeder Extremität stand also ein Klauenstück zur Verfügung, das mit einer Bandsäge entweder von der laterodorsalen Wand oder aber von der Klauenspitze herausgesägt wurde.

Nachdem die Proben grob mit Wasser gereinigt und gekennzeichnet waren, wurden sie in Plastikbeutelchen verpackt und bis zur weiteren Verwendung tiefgefroren.

Nach dem Auftauen wurden die Proben von allen Weichteilen, einschließlich der Lederhaut, befreit; grobe Verschmutzungen wurden mit Wasser entfernt. Die noch unsaubere Oberfläche wurde mit einer Raspel bearbeitet, wobei auch die nach Pflug (1978) etwa 0,4 mm dicke Pigmentschicht entfernt wurde, so daß ein möglicher Einfluß derselben auf die löslichen Proteine nicht berücksichtigt werden konnte. Abschließend wurden die Klauenstücke mit destilliertem Wasser gespült. Nach dem Trocknen erfolgte die Pulverisierung, wobei alle drei Zonen, hartes, weiches und weißes Horn, mit einbezogen wurden. Nach dem Sieben des Hornpulvers durch

ein Prüfsieb mit einer Maschenweite von 0,250 mm wurde das Hornpulver 48 Std. lang im Exsikkator über Kieselgel bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Um eine Extraktion der Proteine zu erzielen, wurde das Hornpulver mit einem Tris-Phosphat-Puffer versetzt. Der Puffer war, entsprechend dem des Sammelgels, auf einen pH-Wert von 6,9 eingestellt. Nach 20 stündigem Stehen wurde mit einer Mikrofilternutsche (D 3) filtriert; 0,3 ml des Filtrates wurden elektrophoriert.

Mit diesem Verfahren konnten zwar lösliche Proteine extrahiert werden, die Bandenintensität war so schwach, daß die densitometrische Auswertung nicht funktionierte. Um eine Erhöhung der Bandenintensität zu erzielen, wurde die Hornpulverpuffer-Suspension während des 20 stündigen Extraktionsvorganges auf 39° C erwärmt. Dadurch konnten auswertbare Ergebnisse erzielt werden.

4.5. Ermittlung des optimalen Extraktionsverhältnisses

Um das optimale Verhältnis zwischen Hornpulver und Phosphatpuffer herauszufinden, wurden mit dem Hornpulver einer Klaue verschiedene Verhältnisse angesetzt:

70,00 mg Hornpulver/ml Phosphatpuffer

66,66 mg " /ml "

50,00 mg " /ml "

46,66 mg " /ml "

33,33 mg " /ml "

Auf ein höheres Verhältnis als 70 : 1 zu gehen, war nicht möglich, weil dann das Hornpulver den Puffer wie ein Schwamm aufsaugte.

Dabei konnten folgende Ergebnisse erzielt werden:

- Bei allen geprüften Verhältnissen traten keine Unterschiede in der Bandenanzahl auf.
- Die Bandenintensität korrelierte mit der Pulvermenge.
- Ebenfalls mit der Pulvermenge korrelierte die Untergrundfärbung.

Zog man die Faktoren Bandenintensität, Untergrundfärbung und technischen Aufwand in Betracht, so empfahl es sich, mit einem Verhältnis von 46,66 mg/ml weiterzuarbeiten. In den folgenden Abbildungen (siehe 2 - 6) ist auf der Ordinate die Extinktion (E) und auf der Abszisse die Wanderungsstrecke (S) aufgetragen.

Abb. 2 Densitogramm bei 70 mg/ml

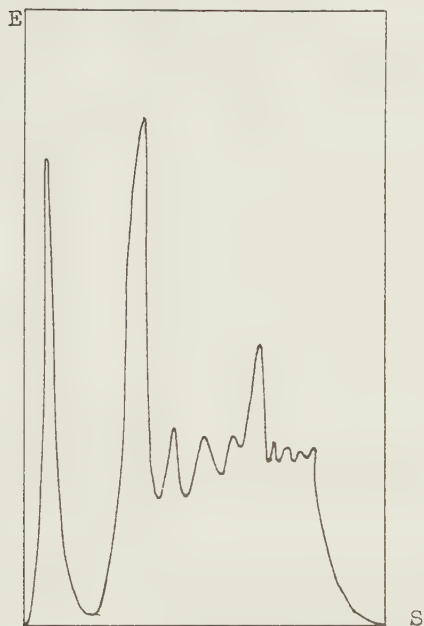


Abb. 3 Densitogramm bei 66,66 mg/ml



Abb. 4 Densitogramm bei 50 mg/ml

E

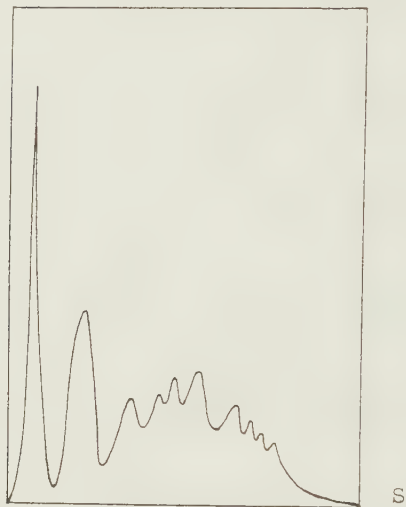


Abb. 5 Densitogramm bei 46,66 mg/ml

E



Abb. 6: Densitogramm bei 33,33 mg/ml



4.6. Ermittlung der optimalen Trenngelkonzentration

Durch die Steuerbarkeit der Porengröße des Trenngels über die Acrylamidkonzentration erfolgt die Auftrennung bei der Diskelektrophorese nicht nur auf Grund der unterschiedlichen elektrischen Ladung, sondern auch auf Grund des Molekulargewichts, d.h. also, daß jede Trenngelkonzentration einen bezüglich des Molekulargewichts optimalen Trennbereich aufweist. So liegt dieser Bereich bei einem 7,5 %igen Trenngel

zwischen 3×10^4 und 3×10^5 .

Laut Davies (1964) tritt bei Acrylamidkonzentrationen unter 2 % keine Gelierung der Gele mehr ein; durch eigene Untersuchungen konnte herausgefunden werden, daß erst ab einer Acrylamidkonzentration von 4 % die Gele mechanisch so stabil sind, daß ihre Handhabung möglich ist.

Um nun diejenige Trenngelkonzentration zu ermitteln, bei der die löslichen Klauenproteine optimal aufgetrennt werden, wurden folgende Konzentrationen untersucht:

4 %, 5 %, 6 %, 7,5 %, 10 %, 15 %, 20 %

Die Proben waren in allen Gelen gleich.

Ergebnis:	4,0 %	2 Banden
	5,0 %	6 Banden
	6,0 %	10 Banden
	7,5 %	6 Banden
	10,0 %	6 Banden
	15,0 %	4 Banden
	20,0 %	3 Banden

Es zeigt sich also eine deutliche Überlegenheit des 6 %igen Gels, das Proteine mit einem Molekulargewicht größer als 3×10^5 optimal trennt (siehe Abb. 7 - 13).

Abb.7 Densitogramm eines 4 %igen Trenngels

E



S

Abb.8 Densitogramm eines 5 %igen Trenngels

E



S

Abb. 9 Densitogramm eines 6 %igen Trenngels

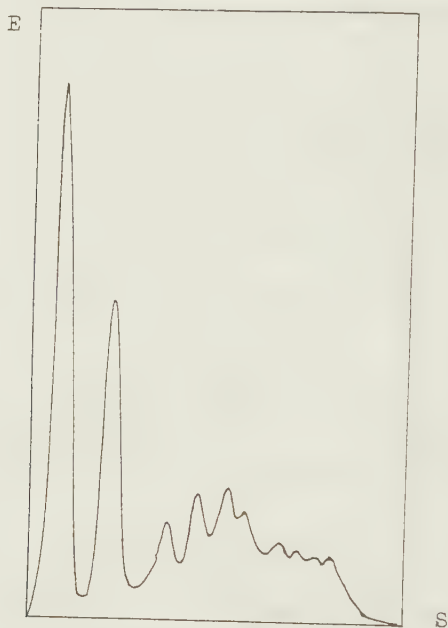


Abb.10 Densitogramm eines 7,5 %igen Trenngels



Abb. 11 Densitogramm eines 10 %igen Trenngels



Abb. 12 Densitogramm eines 15%igen Trenngels

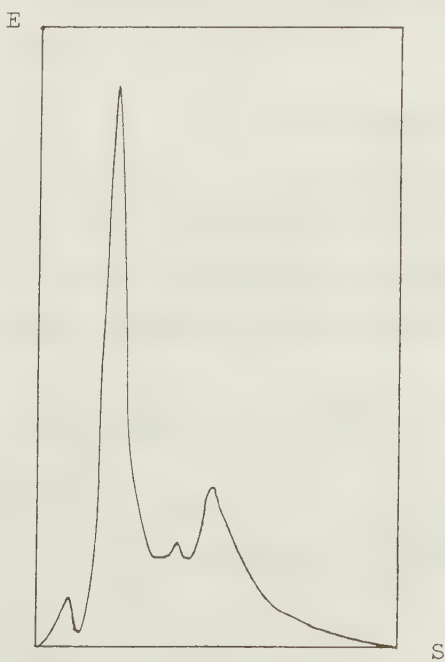


Abb. 13: Densitogramm eines 20 %igen Trenngels



4.7. Die optimale Stromstärke

Laut Maurer (1968) wird für länger dauernde reproduzierbare Elektrophoresen ein Stromkonstantgerät, im Gegensatz zu einem Spannungskonstantgerät, benötigt. Ein solches Gerät stand von der Firma Desaga in Heidelberg zur Verfügung.

Bei der Wahl der zu verwendenden Stromstärke ist folgendes zu berücksichtigen:

- hohe Feldstärken und kurze Trennzeiten erhöhen das Auflösungsvermögen der Elektrophorese

- Stromstärken über 5 mA sollten, da sich sonst zuviel Joulsche Wärme entwickelt, vermieden werden.

Bei Verwendung von 5 mA/Gel und einer Laufzeit von 150 min. traten folgende Temperaturen auf:

oberer Elektrodenpuffer: 70° C

unterer Elektrodenpuffer: 33° C

Damit war die für eine Denaturierung von Proteinen notwendige Temperatur eindeutig überschritten. Um nun nicht die für ein gutes Auflösungsvermögen erforderliche Stromstärke von 5 mA/Gel verringern zu müssen, mußte gekühlt werden. Deshalb wurde die Elektrophorese mit auf 7° C vorgekühltem Puffer in einer Tiefgefriertruhe durchgeführt.

Hierbei traten folgende Temperaturen auf:

oberer Elektrodenpuffer: 21° C

unterer Elektrodenpuffer: 15° C

Die Laufzeit wurde mit 150 min. angesetzt. Bei kürzeren Laufzeiten trat nur eine unvollständige Trennung ein, d.h. einzelne Banden waren nicht eindeutig von anderen zu trennen. Bei längeren Laufzeiten wurden die Banden stets unscharf und damit nur ungenau auswertbar.

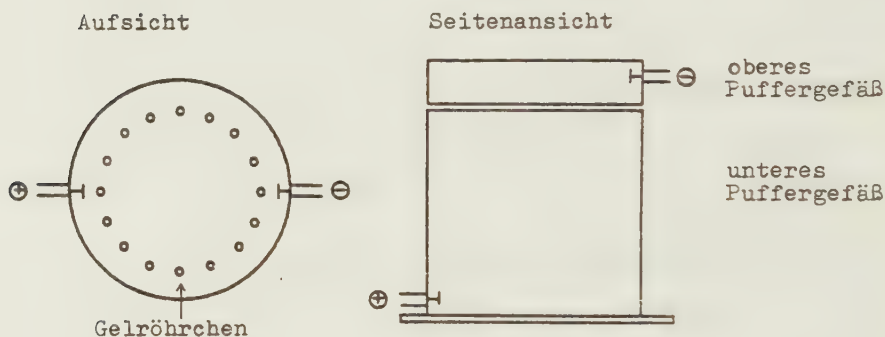
Bei 150 min. wanderte die schnellste Bande 6 cm weit.

4.8. Vergleichbarkeit der Banden.

Um die entsprechenden Banden verschiedener Gele miteinander vergleichen zu können, müssen ihre Wander-

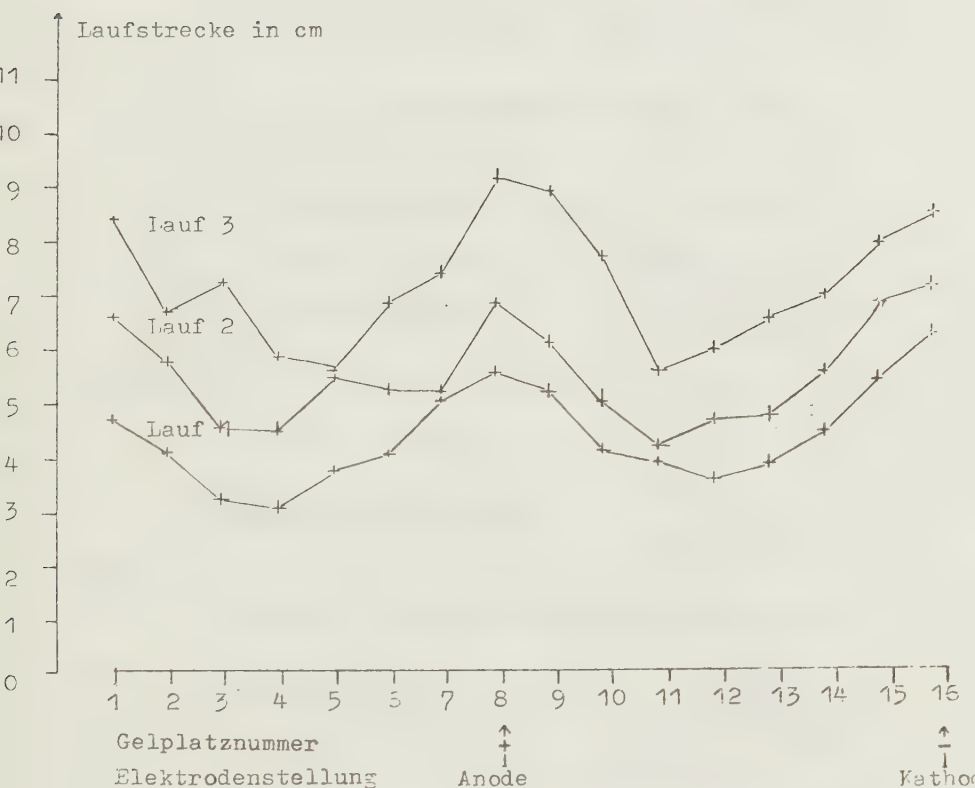
ungsstrecken gleich sein. Bei der hier verwendeten Elektrophoreseapparatur war dies nicht der Fall. Das Gerät war folgendermaßen aufgebaut (siehe Abb. 14):

Abb.14: Elektrophoreseapparatur schematisch



Die beiden Elektroden waren also diagonal angeordnet, wodurch der Abstand Elektrode - Gelröhrchen für jedes Gelröhrchen ein anderer war. Trägt man die Wanderstrecke gegen die Gelplatznummer und die Elektrodenstellung auf (siehe Abb.15), so zeigt sich deutlich der Einfluß der Elektrodenplacierung auf die Wanderungsstrecke.

Abb. 15: Abhängigkeit der Laufstrecke von der
Elektrodenstellung



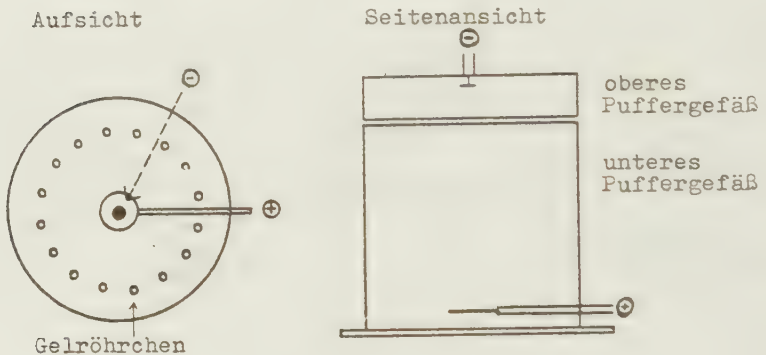
In unmittelbarer Nähe des Gelröhrchens 8 war die Anode, des Gelröhrchens 16 die Kathode angebracht.

Es stellte sich also die Forderung, die Elektroden so anzubringen, daß jedes Gelröhrchen zu jeder Elektrode

denselben Abstand aufweist.

Dies geschah durch Anbringung einer zentralen Kathode und einer ringförmigen Anode (siehe Abb. 16).

Abb. 16: Elektrophoreseapparatur



4.9. Wahl der Färbemethode

Von Bedeutung für die Darstellung von Proteinen sind folgende Farbstoffe:

Amidoschwarz 10 B

Procion Brilliant Blau

Coomassie Brilliant Blau

Die Anwendung von Amidoschwarz 10 B:

Amidoschwarz findet Verwendung als 1%ige Lösung in einem Gemisch aus Methanol - Glycerin - Essigsäure im Verhältnis 5 : 5 : 2. Die Färbedauer bewegt sich zwischen 20 und 60 min. Der überschüssige Farbstoff

wird entweder elektrophoretisch oder durch Auswaschen entfernt.

Die Anwendung von Procion Brilliant Blau:

Zuerst muß in 20 %iger wässriger Sulfosalicylsäure fixiert werden. Der Farbstoff selbst befindet sich in 1 %iger Konzentration in 10 %iger Essigsäure und 50 %igem Methanol im Verhältnis 3 : 1. Die Färbedauer schwankt zwischen einer und zwei Stunden. Die Entfärbung erfolgt durch Auswaschen mit dem Lösungsmittelgemisch. Die hier noch notwendige Restentfärbung sollte dagegen in 7 %iger Essigsäure stattfinden.

Die Anwendung von Coomassie Blau:

Auch bei diesem Farbstoff ist eine Fixierung in 20 %iger wässriger Sulfosalicylsäure erforderlich. Diese dauert 18 Stunden. Danach erfolgt die Anfärbung. Coomassie findet 0,25 %ig in schwermetallfreiem Wasser Verwendung. Die Färbedauer beträgt 0,5 bis 2 Stunden. Die Entfärbung erfolgt hier elektrophoretisch in 3,75 %iger Essigsäure.

Diese drei Farbstoffe wurden auf ihre Verwendbarkeit untersucht. Dabei zeigte sich Amidoschwarz den beiden anderen deutlich überlegen:

- Procion wies gegenüber Amidoschwarz keine bessere Proteindarstellung auf. Es war jedoch in der Anwendung komplizierter.
- Coomassie zeichnete sich zwar durch eine höhere Proteinempfindlichkeit aus, so daß mehr Banden nachgewiesen wurden; bezüglich der Reproduzierbarkeit erschien es jedoch für quantitative Untersuchungen nicht geeignet.

Bei der Entfärbung des überschüssigen Farbstoffes trat folgendes Problem auf:

- alleiniges Auswaschen in 10 %iger Essigsäure mit Absorptionspellets führte zu einer so hohen Untergrundfärbung, daß eine densitometrische Auswertung nicht mehr möglich war.
- Bei der elektrophoretischen Entfärbung dagegen können einzelne schwache Banden verlorengehen. Dies wird weitestgehend vermieden, wenn senkrecht zur Trennrichtung entfärbt wird.

Demzufolge fanden hier beide Methoden kombiniert Anwendung:

Nach dem Färben wurden die Gele zuerst mit destilliertem Wasser gespült, worauf sie in das Entfärbebad überführt wurden. Während des zwanzigstündigen Auswaschens erfolgte gleichzeitig eine Entfärbung durch Transversal-Elektrophorese mit 12,5 V Gleichspannung und 100 mA.

4.10. Endgültige Methode

Verwendung fand das Gelsystem Nr. 1 (Maurer, 1968):

pH-Trenngel	:	8,85
pH-Sammelgel	:	6,9
pH-Puffer-Tris-Glycin	:	8,3
Trenngelkonzentration	:	6,0 %
Trenngellänge	:	100,0 mm
Sammelgel I	:	0,3 ml
Probemenge, deren spez. Gew. mit 0,2 ml Saccharose erhöht ist	:	0,5 ml
Sammelgel II (ohne Lösung Nr. 7)	:	0,3 ml
Stromstärke	:	5 mA/Gel
Laufzeit	:	150 min.
Farbstoff	:	Amidoschwarz 10 B
Färbedauer	:	0,5 Std.
Entfärben	:	kombiniert durch Auswaschen in 10 %iger Essig - säure und Transversal-Elektrophorese
Auswertung	:	densitrometrisch

4.11. Die Wiederholbarkeit

4.11.1. Die Wiederholbarkeit in der Serie

Zur Überprüfung der Wiederholbarkeit in der Serie wurde in einem elektrophoretischen Lauf das Horn eines Tieres 8 mal untersucht.

In Tabelle 3 sind die Variationskoeffizienten für die einzelnen Proteine dargestellt. In Abhängigkeit von der Quantität der einzelnen Proteine liegen sie zwischen 6,2 und 60 %. Bei Proteinen mit einem hohen prozentualen Anteil ist der Variationskoeffizient wesentlich niedriger als bei solchen mit einem niedrigen prozentualen Anteil.

Tabelle 3: Mittelwerte, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten für die Proteine A - H

	A	B	C	D	E	F	G	H
$\bar{x}$	19,98	23,69	14,36	13,13	15,36	7,21	2,90	2,80
s	1,24	2,09	1,10	1,94	2,92	1,44	1,77	1,63
v	6,21	8,75	7,40	14,78	19,01	19,97	61,03	58,21

$\bar{x}$ = prozentualer Anteil

Unvermeidbar ist der Densitometerfehler. Zur Abschätzung dieses Fehlers wurde eine Probe zehn mal hinter-

einander ausgewertet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 festgehalten. Auch hier zeigt sich deutlich die Abhängigkeit des Variationskoeffizienten von der Quantität der einzelnen Proteine. Je niedriger der prozentuale Anteil, desto höher der Variationskoeffizient.

Tabelle 4: Mittelwerte, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten der Proteine A - H eines Gels, das 10 mal hintereinander gemessen wurde

	A	B	C	D	E	F	G	H
$\bar{x}$	20,00	19,11	16,32	14,03	12,66	7,67	7,76	2,29
s	0,72	0,76	0,73	1,08	0,91	0,74	0,41	0,71
v	3,60	3,98	4,47	7,70	7,19	9,65	5,28	31,00

$\bar{x}$ = prozentualer Anteil

Des weiteren wurde zur Bestimmung der Wiederholbarkeit in der Serie die Korrelation zwischen den Werten der Doppelproben von 164 Tieren berechnet. Die Ergebnisse sind der Tabelle 5 zu entnehmen.

Tabelle 5: Korrelationskoeffizienten der Doppelproben für die Proteine A - I

Lösliches Protein	n	r
A	164	0,98
B	164	0,97
C	91	0,95
D	71	0,95
E	157	0,93
F	155	0,93
G	144	0,91
H	78	0,89
I	30	0,92

4.11.2. Die Wiederholbarkeit von Tag zu Tag

Zur Feststellbarkeit der Wiederholbarkeit von Tag zu Tag wurde dieselbe Probe an verschiedenen Tagen elektrophoriert. Tabelle 6 zeigt die Ergebnisse.

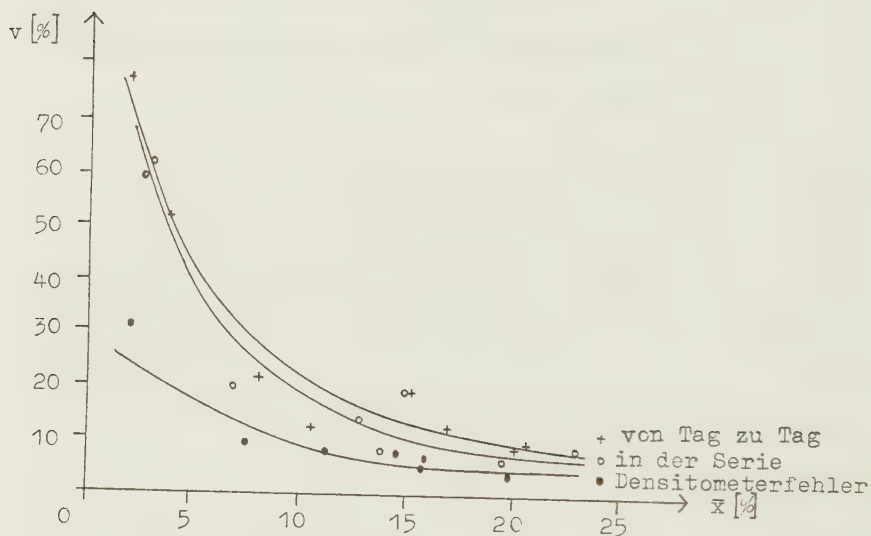
Tabelle 6: Mittelwerte, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten der Proteine A - H einer Probe, die an verschiedenen Tagen untersucht wurde. $n = 15$

	A	B	C	D	E	F	G	H
$\bar{x}$	21,11	22,14	11,86	15,16	17,09	7,72	3,85	2,20
s	1,89	2,61	1,33	2,88	1,99	4,81	1,95	1,77
v	8,95	11,79	11,21	19,00	11,64	23,45	50,65	77,15

$\bar{x}$ = prozentualer Anteil

Aus Abbildung 17 ersieht man die deutliche Abhängigkeit des Variationskoeffizienten von der Quantität der einzelnen Proteine.

Abb. 17: Abhängigkeit des Variationskoeffizienten von
der Quantität der löslichen Proteine



5. Ergebnis

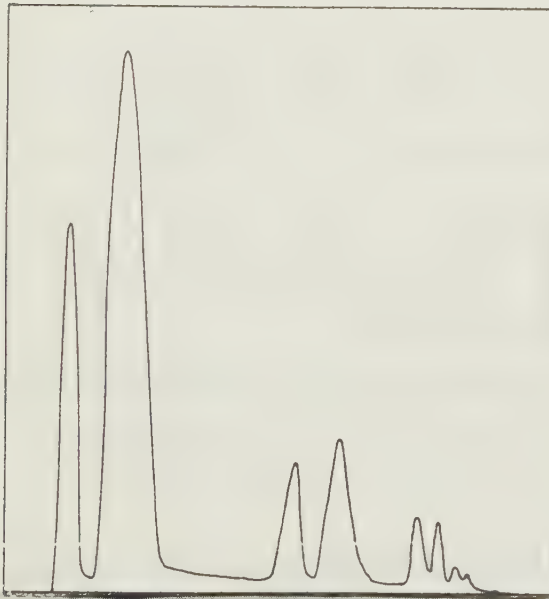
5.1. Zur Auswertung und Nomenklatur der löslichen Proteine

Erfasst wurde sowohl das Vorhandensein von löslichen Proteinen als auch ihr prozentualer Anteil bezogen auf die Summe der löslichen Proteine eines Tieres.

Die löslichen Proteine können demnach zum einen als qualitatives und zum anderen als quantitatives Merkmal betrachtet werden, so daß sich die Auswertungen entsprechend aufgliedern.

Da zwischen den Tieren qualitative Unterschiede bestehen, ist es notwendig, die einzelnen Proteine zu bezeichnen. Dies erfolgt durch Großbuchstaben, wobei A das am weitesten und M das am wenigsten weit gewanderte Protein darstellt (siehe Abb. 18).

Abb. 18: Polyacrylamidgel und zugehöriges Densitogramm



A B

E F

H I K L

5.2. Unterschiede zwischen den Extremitäten

In der ersten Phase der Untersuchung wurden von 33 Bullen 4 Klauen, eine von jeder Extremität, untersucht. Die Auswahl dieser Proben erfolgte rein zufällig.

Zweck dieses Vorgehens war es, festzustellen, ob signifikante qualitative und/oder quantitative Unterschiede zwischen

- Vorder- und Hinterextremität,
 - linker und rechter Extremität,
 - lateraler und medialer Klaue
- bestehen.

Ergebnis:

Die qualitative Beurteilung erfolgte sofort nach dem Entfärben der Gele. Es stellte sich heraus, daß bei 32 von 33 Tieren das Proteinmuster bei allen vier Klauen gleich war.

Bei einem Tier trat bei einer Klaue lediglich die A-Bande auf, wogegen die anderen drei Klauen sowohl die A- als auch die B-Bande aufwiesen.

In Anbetracht der Tatsache, daß bei allen weiteren Proben stets zumindest die A und die B-Bande in Erscheinung traten, wurde dieses Tier in dieser Auswertung nicht berücksichtigt.

Zur Erfassung der möglichen quantitativen Unterschiede zwischen den Klauen wurde für jedes vorkommende Protein eine Varianzanalyse berechnet.

Aus Tabelle 7 sind die Mittelwerte, die Standardabweichungen und die F-Werte der einzelnen Proteine für die vier Extremitäten zu ersehen. Für n=10 wurde keine Berechnung durchgeführt.

Tabelle 7: Mittelwerte und Standardabweichungen der Proteine

A - H für die vier Extremitäten

Lösl. Prote- ine	n	vorne links		vorne rechts		hinten links		hinten rechts		F-Werte:
		$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	
A	33	19,09	10,86	20,83	13,98	17,17	11,18	16,56	11,27	0,82
B	33	49,72	18,26	47,88	14,06	51,54	14,09	49,91	15,48	0,31
C	9	15,41	6,19	13,79	5,27	15,06	5,96	17,75	6,15	--
D	16	12,44	4,57	11,31	3,16	13,34	3,78	13,08	4,19	0,79
E	24	13,53	6,71	12,54	4,89	12,32	4,16	13,78	4,46	0,42
F	20	11,33	7,20	10,98	5,12	10,55	3,55	11,00	4,82	0,09
G	15	8,36	5,91	8,93	5,09	9,53	5,38	10,76	8,50	0,36
H	7	2,28	1,11	2,17	1,17	2,69	1,30	3,15	2,45	--

 $\bar{x}$ = prozentualer Anteil

Der niedrige F-Wert sagt aus, daß zwischen den vier Extremitäten keine signifikanten Mittelwertunterschiede bezüglich der löslichen Proteine bestehen.

Des weiteren wurden die Intraklaßkorrelationen zwischen den Extremitäten berechnet. Für die Proteine C, H, I und K wurde wegen des niedrigen n keine Berechnung durchgeführt.

Tabelle 8: Intraklaßkorrelation zwischen den Extremitäten für die Proteine A, B, D - G

Lösl. Prot.	ic
A	0,52
B	0,71
D	0,47
E	0,43
F	0,50
G	0,72

Es muß also davon ausgegangen werden, daß zwischen den vier Extremitäten qualitativ eine Übereinstimmung besteht. Quantitativ ist eine mittlere bis enge Beziehung gegeben.

Um den Untersuchungsaufwand in Grenzen zu halten, wurde auf Grund der mittleren bis engen Beziehung im weiteren Verlauf nur noch eine Klaue, und zwar die linke hintere, laterale Klaue, untersucht.

5.3. Die Auswertung der Proteine als qualitatives Merkmal

5.3.1. Absolute und relative Häufigkeit der einzelnen Proteine

Die einzelnen Proteine kommen unterschiedlich häufig vor, so daß zwischen den Tieren qualitative Unterschiede bestehen. Absolute und relative Häufigkeiten der Proteine A - M sind aus Tabelle 9 und Abbildung 19 zu entnehmen.

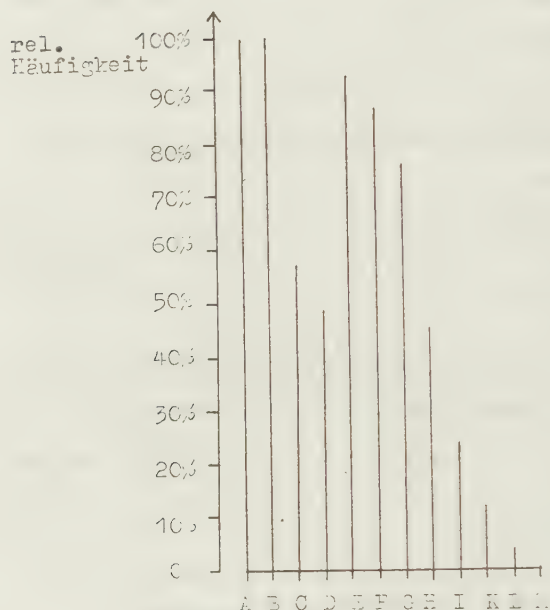
Tabelle 9: Absolute und relative Häufigkeit der
Proteine A - M (511 Tiere)

Lösl. Prot.	A/B	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M
n	511	289	248	470	439	383	230	116	49	19	1
h	100%	57%	49%	92%	86%	75%	45%	23%	10%	4%	-

n = absolute Häufigkeit

h = relative Häufigkeit

Abb. 19: Relative Häufigkeit der Proteine A - M



Betrachtet man Abbildung 19 ohne A und B, so erscheint die Verteilung der übrigen Proteine nahezu normal. Darauf wird in der Diskussion näher eingegangen.

Interessant ist nun die Frage, ob auf das Vorkommen der einzelnen Proteine die Faktoren Rasse, Haltung, Lokalisation und Nachkommengruppe einen Einfluß besitzen.

Aus den nun folgenden Auswertungen werden die Proteine A und B herausgenommen, da sie stets zu 100 % vorkommen und somit nicht berücksichtigt werden müssen. Auch das

Protein M, das lediglich ein einziges Mal vorkommt, findet hier keine Berücksichtigung. Tiere mit fehlenden Angaben betreffs Haltung oder Lokalisation fallen bei den jeweiligen Auswertungen heraus.

5.3.1.1. Der Einfluß der Rasse

Aus Tabelle 10 ist zu entnehmen, daß außer für die Proteine F und I kein signifikanter Rasseneinfluß nachgewiesen werden kann.

Tabelle 10: Relative Häufigkeit der Proteine C - L
bei den Rassen Deutsches Fleckvieh und
Braunvieh

	C	D	E	F	G	H	I	K	L
DF n=421	57%	48%	92%	88%	76%	45%	24%	10%	4%
Br n = 90	54%	57%	90%	76%	71%	44%	14%	7%	2%
Sign.	ns	ns	ns	xx	ns	ns	x	ns	ns

DF = Deutsches Fleckvieh, Br = Braunvieh, x = $p < 0,05$

xx = $p < 0,01$

Sowohl F als auch I treten signifikant häufiger beim Deutschen Fleckvieh als beim Braunvieh auf. Auffallend ist, daß außer D alle löslichen Proteine beim Deutschen Fleckvieh häufiger vorkommen.

5.3.1.2. Der Einfluß der Haltung

Da also ein deutlicher, wenn auch nur zum Teil nachweisbarer Rassenunterschied besteht, erfolgt die weitere Auswertung innerhalb der jeweiligen Rasse.

Tabelle 11: Relative Häufigkeit der Proteine C - L
in den Haltungsformen innerhalb der
Rassen

		C	D	E	F	G	H	I	K	L
DF n=403	V	60%	51%	95%	90%	76%	49%	30%	11%	5%
	T	54%	45%	91%	87%	75%	42%	20%	9%	3%
	Sign.	ns	ns	ns	ns	ns	ns	x	ns	ns
Br n= 84	V	60%	74%	87%	64%	68%	43%	15%	6%	2%
	T	54%	35%	92%	86%	76%	49%	16%	8%	27%
	Sign.	ns	xxx	ns	x	ns	ns	ns	ns	ns

DF = Deutsches Fleckvieh, Br = Braunvieh,

V = Vollspaltenboden, T = Teilspaltenboden,

x = $p < 0,05$, XXX = $p < 0,001$

Es fällt auf, daß bei V der Anteil der löslichen Proteine beim Deutschen Fleckvieh immer und beim Braunvieh zum Teil höher ist.

5.3.1.3. Der Einfluß der Lokalisation

Verglichen werden Wandhorn und Klauenspitzenhorn.

Tabelle 12: Relative Häufigkeit der Proteine C - L
in den Lokalisationen innerhalb der
Rassen

		C	D	E	F	G	H	I	K	L
DF n=418	W 40%	59%	63%	91%	81%	67%	43%	28%	15%	8%
	K 59%	56%	36%	94%	94%	82%	47%	22%	7%	2%
	Sign.	ns	xxx	ns	xxx	xxx	ns	ns	xx	xx
Br n= 88	W 63%	51%	70%	89%	67%	68%	46%	16%	7%	4%
	K 35%	48%	32%	90%	90%	77%	45%	13%	6%	0%
	Sign.	ns	xxx	ns	x	ns	ns	ns	ns	ns

DF = Deutsches Fleckvieh, Br = Braunvieh, W = Wandhorn, K = Klauenspitzenhorn, x = $p < 0,05$, xx = $p < 0,01$
xxx = $p < 0,001$

Beim Deutschen Fleckvieh sind die Proteine D, K und L zahlreicher im Wandhorn, F und G dagegen zahlreicher im Klauenspitzenhorn vertreten.

Beim Braunvieh treten, ebenso wie beim Deutschen Fleckvieh, signifikante Differenzen bei D und F auf, also bei denselben Proteinen, bei denen schon deutliche Unterschiede zwischen den beiden Haltungsförmungen bestehen. Es wird deshalb die Lokalisation

innerhalb der Haltungsformen untersucht. Für die Haltungsform Vollspaltenboden ist die Tierzahl zu niedrig.

Tabelle 13: Relative Häufigkeit der Proteine D und F beim Braunvieh innerhalb der Haltungsform Teilspaltenboden für die beiden Lokalisationen.

Br - T n = 37		D	F
	W	43%	71%
	K	33%	90%
	Sign.	ns	ns

Br - T = Braunvieh auf Teilspaltenboden, W = Wandhorn, K = Klauenspitzenhorn

Aus Tabelle 13 ist ersichtlich, daß die Unterschiede geringer und nicht mehr signifikant, aber in der gleichen Richtung sind.

Es bestehen also beim Fleckvieh deutliche Unterschiede zwischen den beiden Lokalisationen, wohingegen beim Braunvieh die Lokalisation keinen Einfluß auf die Ausprägung der Proteine zu haben scheint.

5.3.1.4. Der Einfluß der Nachkommengruppe

Aus Tabelle 14 sind die relativen Häufigkeiten der Proteine C - L in den einzelnen Nachkommengruppen zu ersehen.

Tabelle 14: Relative Häufigkeit der Proteine C - L in
den Nachkommengruppen 581 - 625

- Nach- kom.- grup.	n	C	D	E	F	G	H	I	K	L
581	10	50%	80%	100%	90%	80%	50%	50%	20%	0%
582	7	14%	86%	86%	86%	57%	57%	43%	29%	0%
583	12	33%	75%	100%	67%	92%	50%	0%	0%	0%
584	8	13%	63%	88%	75%	63%	50%	0%	0%	0%
585	7	86%	71%	71%	86%	71%	14%	14%	0%	0%
586	17	65%	76%	76%	47%	35%	24%	18%	6%	0%
587	13	85%	69%	85%	92%	38%	31%	31%	0%	0%
588	9	78%	67%	100%	44%	35%	33%	11%	0%	0%
589	11	73%	64%	73%	73%	82%	64%	36%	9%	0%
590	10	80%	70%	100%	60%	60%	50%	30%	30%	10%
591	17	59%	53%	94%	88%	76%	53%	29%	12%	6%
592	12	42%	33%	100%	92%	92%	83%	58%	25%	25%
593	11	55%	45%	64%	55%	55%	18%	9%	9%	0%
594	17	53%	76%	94%	71%	71%	24%	12%	6%	6%
595	15	53%	60%	93%	80%	53%	40%	33%	20%	20%
596	11	73%	73%	91%	82%	45%	9%	0%	0%	0%
597	13	62%	62%	85%	69%	69%	8%	8%	0%	0%
598	16	50%	50%	88%	88%	88%	50%	19%	6%	6%
599	15	67%	40%	100%	87%	80%	67%	27%	13%	7%
601	16	56%	31%	94%	94%	81%	63%	38%	31%	12%
602	14	57%	43%	93%	100%	79%	50%	36%	36%	7%
603	13	54%	46%	92%	92%	69%	31%	23%	0%	0%
604	18	44%	44%	94%	94%	72%	39%	17%	0%	0%
605	14	50%	36%	79%	79%	71%	36%	21%	0%	0%
606	16	69%	19%	94%	94%	94%	38%	19%	6%	0%
607	14	57%	50%	86%	86%	71%	36%	29%	14%	14%
608	16	75%	31%	100%	100%	100%	31%	25%	13%	0%
609	12	50%	17%	100%	100%	100%	83%	0%	0%	0%
610	16	56%	38%	100%	100%	100%	56%	44%	19%	6%
611	10	40%	10%	90%	90%	60%	60%	30%	0%	0%
612	15	47%	20%	100%	100%	80%	53%	20%	0%	0%
613	14	64%	57%	100%	100%	100%	43%	7%	0%	0%
614	11	55%	55%	100%	100%	91%	45%	27%	9%	9%
615	8	50%	63%	100%	100%	88%	50%	13%	13%	0%
616	8	63%	38%	88%	88%	88%	50%	25%	0%	0%
617	11	64%	64%	91%	91%	73%	55%	27%	18%	0%
618	12	33%	25%	83%	83%	83%	33%	8%	0%	0%
619	9	56%	44%	100%	100%	100%	89%	11%	0%	0%
620	8	50%	38%	100%	100%	75%	63%	25%	25%	0%
621	3	33%	33%	100%	100%	67%	33%	0%	0%	0%
622	7	43%	14%	100%	100%	71%	43%	0%	0%	0%
623	8	75%	38%	88%	88%	63%	63%	25%	13%	0%
624	2	100%	50%	100%	100%	50%	50%	0%	0%	0%
625	5	40%	20%	100%	100%	80%	40%	40%	20%	0%

Bezüglich dieser relativen Häufigkeiten wird zwischen Nachkommengruppen innerhalb der Lokalisation für die Rasse Deutsches Fleckvieh ein χ^2 -Test durchgeführt. Die Rasse Braunvieh wird wegen der geringen Anzahl nicht berücksichtigt. Das Ergebnis zeigt Tabelle 15.

Tabelle 15: χ^2 -Werte für die Proteine C - H beim Deutschen Fleckvieh

Lösl. Prot.	Wandhorn χ^2	Signifikanz	Klauenspitzenhorn χ^2	Signifikanz
C	145,29	x	86,17	x
D	154,64	x	75,23	x
E	203,27	x	131,23	x
F	187,08	x	131,84	x
G	170,24	x	124,25	x
H	147,13	x	90,80	x

$$x = p < 0,001$$

Für die Proteine C - H bestehen also zwischen den Nachkommengruppen signifikante Unterschiede.

5.3.2. Der Einfluß des Körpergewichts

Um festzustellen, ob das Körpergewicht einen Einfluß auf die Ausbildung der löslichen Proteine ausübt, wird folgender Test durchgeführt: Das durchschnittliche

Körpergewicht von Tieren mit weniger als 7 Proteinen wird verglichen mit dem Körpergewicht von Tieren mit mehr als 6 Proteinen (siehe Tabelle 16). Die Art der Proteine wird dabei nicht berücksichtigt. Es wird nur die Rasse Deutsches Fleckvieh betrachtet.

Tabelle 16: Durchschnittliches Körpergewicht von Tieren mit weniger als 7 und mehr als 6 Proteinen

Lösl. Prot.	n	$\overline{KG}$	s	Sign.
< 7	205	556,9	59,8	ns
> 6	199	559,0	56,8	ns

Wie aus Tabelle 16 ersichtlich, besteht zwischen dem durchschnittlichen Körpergewicht von Tieren mit einer geringen Anzahl von löslichen Proteinen und solchen mit einer hohen Anzahl von löslichen Proteinen kein Unterschied.

Des weiteren wird überprüft, ob die Ausbildung der einzelnen Proteine vom Körpergewicht abhängt. Verglichen wird das durchschnittliche Körpergewicht von den Tieren, die ein bestimmtes Protein besitzen, mit dem Körpergewicht von den Tieren, die es nicht aufweisen. Das Ergebnis ist in Tabelle 17 dargestellt.

Tabelle 17: Durchschnittliches Körpergewicht von Tieren
mit und ohne die Proteine C - L, getrennt
nach Rassen

Lösli. Prot.	Deutsches Fleckvieh		Signif.	Braunvieh		Signif.
	durchsch. KG ohne:	durchschn. KG mit:		durchschn. KG ohne:	durchschn. KG mit:	
C	557,92	557,46	ns	577,65	572,47	ns
D	560,07	554,97	ns	573,38	575,69	ns
E	566,47	556,91	ns	584,78	573,52	ns
F	555,83	557,91	ns	571,18	575,91	ns
G	550,90	559,90	ns	574,48	574,79	ns
H	554,31	561,87	ns	572,44	577,55	ns
I	554,67	564,06	ns	573,97	578,77	ns
K	558,44	550,76	ns	576,38	552,33	ns
L	557,93	551,59	ns	574,42	586,50	ns

Das Körpergewicht nimmt somit auf die Ausbildung der löslichen Proteine keinen Einfluß.

5.3.3. Der Einfluß der Jahreszeit

Wie Schneider (1980) zeigt, ist der Wassergehalt von der Jahreszeit abhängig. Es wird deshalb der Jahreszeiteneinfluß auf die Ausbildung der löslichen Proteine untersucht.

Tabelle 18: Absolute Häufigkeit der löslichen Proteine

A - I in den Schlachtnmonaten

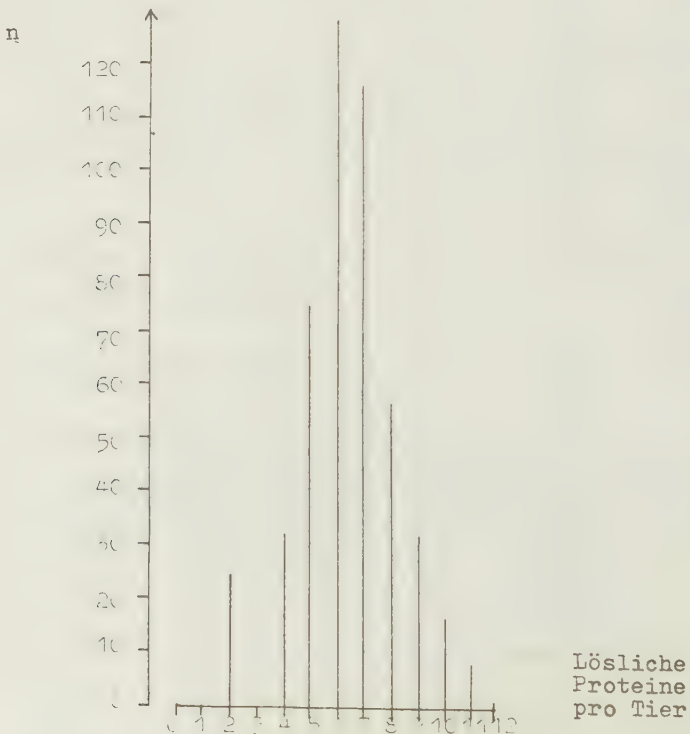
Lösl. Prot.	Mai	Juni	Juli	Aug.	Sept.	Okt.	Nov.	Dez.	Jan.	Feb.	M/A	Mai	Juni	Sign.
A/B	17	16	21	45	34	38	52	28	57	28	21	32	25	ns
C	6	11	13	29	17	17	24	14	42	12	13	17	15	ns
D	14	11	14	33	16	12	23	10	22	6	6	18	8	ns
E	14	13	20	39	32	27	45	25	56	27	21	31	24	ns
F	13	10	16	33	31	26	43	27	56	27	21	31	24	ns
G	10	8	16	20	29	21	36	23	51	26	19	29	18	ns
H	8	5	7	10	21	14	22	9	31	14	10	19	14	ns
I	7	2	2	9	15	7	13	3	19	3	5	6	8	ns

Der χ^2 -Test, der die tatsächlichen absoluten Häufigkeiten der einzelnen Proteine, wie sie in Tabelle 18 angegeben sind, mit den zu erwartenden, wie sie aus den relativen Häufigkeiten berechnet werden, vergleicht, zeigt, daß die Jahreszeit auf die Ausbildung der Proteine keinen Einfluß ausübt.

5.3.4. Die Anzahl der löslichen Proteine pro Tier

Unter der Anzahl der Proteine ist zu verstehen, wieviel Proteine ein Tier, unabhängig von der Art der Proteine, aufweist.

Abb. 20: Häufigkeiten der Anzahl der Proteine pro Tier



Aus Abbildung 20 ist ersichtlich, daß zwischen 2 und 12 verschiedener löslicher Proteine pro Tier vorkommen.

Die Häufigkeitsverteilung der Anzahl der Proteine entspricht sehr gut einer Normalverteilung.

Es ist zu sehen, daß kein Tier lediglich ein oder drei Proteine aufweist.

Um herauszufinden, ob Rasse, Haltung und Lokalisation Einfluß auf die Anzahl der löslichen Proteine haben, wurde eine Dreifachvarianzanalyse durchgeführt.

Tabelle 19: Durchschnittliche Anzahl der Proteine pro Tier, aufgegliedert nach Rasse, Haltung und Lokalisation

DF	V		n	$\bar{x}$	s
$\bar{x} = 6,46$ $s = 1,84$	$\bar{x} = 6,67$ $s = 1,71$	W	77	6,44	1,83
		K	115	6,83	1,69
	$\bar{x} = 6,59$ $s = 1,84$	W	89	6,60	2,08
		K	122	6,04	1,71
Br $\bar{x} = 6,20$ $s = 1,82$	V $\bar{x} = 6,21$ $s = 1,82$	W	47	6,21	1,71
		K	---	-,--	-,--
	T $\bar{x} = 6,19$ $s = 1,93$	W	7	6,86	1,77
		K	30	6,63	1,94

DF = Deutsches Fleckvieh, Br = Braunvieh,

V = Vollspaltenboden, T = Teilspaltenboden,

W = Wandhorn, K = Klauenspitzenhorn

Aus Tabelle 19 ist eine sehr gute Übereinstimmung zwischen den Mittelwerten zu ersehen. Dieser Eindruck wird durch die Varianzanalyse bestätigt. Es können keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden.

5.3.5. Kombinationen

5.3.5.1. Proteinmuster

Aus Tabelle 20 sind sämtliche aufgetretenen Proteinmuster zu ersehen.

Tabelle 20: Proteinmuster

Kombi.-Nr.	K o m b i n a t i o n e n												n
1	A	B											26
2	A	B	C	D									3
3	A	B	-	D	E								10
4	A	B	-	D	E								20
5	A	B	-	D	E	F							17
6	A	B	-	D	E	F							13
7	A	B	C	D	E	F							7
8	A	B	C	D	E	F							2
9	A	B	C	D	E	F							18
10	A	B	-	-	E	F	G						31
11	A	B	-	-	E	F	G						2
12	A	B	-	D	E	F	G						23
13	A	B	-	D	E	F	G						1
14	A	B	C	-	E	F	G						48
15	A	B	C	-	-	F	G						3
16	A	B	C	-	-	-	G						1
17	A	B	C	-	E	-	G						3
18	A	B	C	D	E	F	G						49
19	A	B	C	D	E	F	G						1
20	A	B	C	D	E	-	G						1
21	A	B	-	-	E	F	G	H					29
22	A	B	-	-	E	F	-	H					1
23	A	B	-	D	E	F	-	G	H				15
24	A	B	-	D	E	F	-	G	H				1
25	A	B	-	D	E	-	G	H					6
26	A	B	-	D	E	F	-	G	H				1
27	A	B	C	-	E	F	-	G	H				37
28	A	B	C	-	E	F	-	G	H				1
29	A	B	C	D	E	F	-	G	H				24
30	A	B	C	D	E	-	G	H					1
31	A	B	-	-	E	F	-	G	H	I			15
32	A	B	-	-	E	F	-	G	H	I			3
33	A	B	-	D	E	F	-	G	H	I			9
34	A	B	-	D	E	-	G	H					1
35	A	B	C	-	E	F	-	G	H	I			15
36	A	B	C	-	E	F	-	G	H	I			1
37	A	B	C	-	E	F	-	G	H	I			1
38	A	B	C	D	E	F	-	G	H	I			21
39	A	B	C	D	-	F	-	G	H	I			1
40	A	B	-	-	E	F	-	G	H	I			6
41	A	B	-	-	E	F	-	G	H	I	K		2
42	A	B	-	D	E	F	-	G	H	I	K		6
43	A	B	C	-	E	F	-	G	H	I	K		4
44	A	B	C	-	E	F	-	G	H	I	K		1
45	A	B	C	D	E	F	-	G	H	I	K		11
46	A	B	-	-	E	F	-	G	H	I	K	L	3
47	A	B	-	-	E	F	-	G	H	I	K	L	1
48	A	B	C	-	E	F	-	G	H	I	K	L	5
49	A	B	C	D	E	F	-	G	H	I	K	L	8
50	A	B	C	D	E	F	-	G	H	I	K	L	1
51	A	B	C	D	E	F	-	G	H	I	K	L	1

Es bestehen bezüglich der Kombinationen keine Rassenunterschiede.

Untersucht man den Haltungseinfluß, so liegen bei folgenden Kombinationen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) vor:

1 mit $n = 26$, 25 mit $n = 6$, 38 mit $n = 21$.

Die Kombination A/B tritt also signifikant häufiger auf Teilspaltenboden, die Kombinationen 25 und 38 dagegen signifikant häufiger auf Vollspaltenboden auf.

Viel ausgeprägter aber erscheinen die Unterschiede in der Lokalisation. Folgende Proteinmuster treten signifikant häufiger ($x = p < 0,05$, $xx = p < 0,01$, $xxx = p < 0,001$) im Wandhorn auf:

3^{xxx} , 4^{xxx} , 9^{xxx} , 25^{xx} , 49^x .

Folgende Proteinmuster treten signifikant häufiger im Klauenspitzenhorn auf:

5^x , 10^{xxx} , 14^{xx} , 21^x , 35^x .

Es ist also zu sehen, daß das wesentliche Einflußelement auch hier die Lokalisation darstellt.

Eine Untersuchung des Rasse- bzw. Haltungseinflusses innerhalb der Lokalisation verbietet sich auf Grund statistischer Gegebenheiten.

Da bestimmte Kombinationen nur einzeln vorkommen, empfiehlt es sich, für weitere Überlegungen nur die häufigsten zu berücksichtigen.

Tabelle 21: Die 18 häufigsten Proteinkombinationen

Kombi.-Nr	K o m b i n a t i o n e n										n
1	A	B	-	-	-	-	-	-	-	-	26
3	A	B	-	D	E	-	-	-	-	-	10
4	A	B	C	D	E	-	-	-	-	-	20
5	A	B	-	-	E	F	-	-	-	-	17
6	A	B	-	D	E	F	-	-	-	-	13
9	A	B	C	D	E	F	-	-	-	-	18
10	A	B	-	-	E	F	G	-	-	-	31
12	A	B	-	D	E	F	G	-	-	-	23
14	A	B	C	-	E	F	G	-	-	-	48
18	A	B	C	D	E	F	G	-	-	-	49
21	A	B	-	-	E	F	G	H	-	-	29
23	A	B	-	D	E	F	G	H	-	-	15
27	A	B	C	-	E	F	G	H	-	-	37
29	A	B	C	D	E	F	G	H	-	-	24
31	A	B	-	-	E	F	G	H	I	-	15
35	A	B	C	-	E	F	G	H	I	-	15
38	A	B	C	D	E	F	G	H	I	-	21
45	A	B	C	D	E	F	G	H	I	K	11

In Tabelle 21 sind die häufigsten Kombinationen dargestellt. Daraus sind sehr deutlich die Kombinationsmechanismen zu sehen:

- durch Hinzufügen eines weiteren Proteins, der Proteine E - L,
- durch die Proteine C und D, die gemeinsam vorkommen, gemeinsam fehlen und alternierend vorkommen können.

Tabelle 22: Kombinationen der Proteine E - L

K o m b i n a t i o n e n	n	Rassen- einfluß	Haltungs- einfluß	Lokalis.- einfluß
E - - - - -	50	ns	ns	xxx
E F - - - - -	55	ns	ns	ns
E F G - - - -	151	ns	ns	xxx
E F G H - - -	105	ns	ns	xx
E F G H I - -	56	ns	ns	ns
E F G H I K -	21	ns	ns	ns
E F G H I K L	16	ns	ns	xx

xx = $p < 0,01$, xxx = $p < 0,001$

In Tabelle 22 sind die Kombinationen aufgeführt, die durch das Hinzufügen eines weiteren Proteins zustandekommen. Die Proteine C und D sind hier nicht berücksichtigt. Es handelt sich nur um die Proteine E - L.

Es kann weder ein Rassen-, noch ein Haltungseinfluß nachgewiesen werden. Die Lokalisation dagegen ist bei einzelnen Proteinen ein bestimmender Faktor.

Tabelle 23: Kombinationen der Proteine C und D

C	D	n	Rasse- einfluß	Haltungs- einfluß	Lokalis.- einfluß
-	-	126	ns	xx	xxx
-	+	86	ns	ns	ns
+	-	127	ns	ns	xxx
+	+	102	ns	ns	xxx

xx = $p < 0,01$, xxx = $p < 0,001$

Aus Tabelle 23 ist zu entnehmen, daß die Kombinationsmöglichkeiten, die durch die Proteine C und D bestehen, keinem Rasseneinfluß, aber einem deutlichen Lokalisationseinfluß unterliegen.

Das Fehlen dieser beiden löslichen Proteine tritt signifikant häufiger im Klauenspitzenhorn auf. Umgekehrt sind C und D sigifikant häufiger im Wandhorn anzutreffen. Das Protein C allein tritt signifikant häufiger im Klauenspitzen-

horn auf, wogegen D allein häufiger, wenn auch nicht signifikant, im Wandhorn auftritt.

Der eventuell vorliegende Haltungseinfluß ist nicht eindeutig beweisbar. C und D fehlen signifikant häufiger bei Tieren, die auf Teilspaltenboden gehalten wurden, wogegen sie häufiger bei solchen vorkommen, die auf Vollspaltenboden standen. C allein kommt häufiger bei Tieren mit der Haltungsform Teilspaltenboden, D allein dagegen häufiger bei Tieren mit der Haltungsform Vollspaltenboden vor.

5.3.5.2. Die Zweierkombinationen der löslichen Proteine

Bei der Auswertung der Zweierkombinationen und aller folgenden Kombinationen spielen die Proteine A und B keine Rolle, da sie bei jedem Tier vorkommen und somit mit jedem anderen Protein verknüpft sind. Die Kombinationen der Proteine C - L mit A/B entsprechen somit ihren jeweiligen Häufigkeiten. Auch das Protein M wird, da es nur einmal auftritt, weggelassen. Hier interessieren also die Zweierkombinationen der Proteine C - L.

Tabelle 24: Zweierkombinationen der Proteine C - L

	C	D	E	F	G	H	I	K	L
C		162 32%	278 54%	260 51%	235 46%	132 26%	70 14%	31 6%	15 3%
D	x		239 47%	206 40%	179 35%	107 21%	59 12%	27 5%	10 2%
E	-	-		428 84%	373 73%	228 45%	115 23%	49 10%	19 4%
F	-	-	xx		371 73%	222 43%	115 23%	49 10%	19 4%
G	-	-	-	xxx		218 43%	107 21%	45 9%	18 4%
H	-	-	-	x	xxx		114 22%	48 9%	18 4%
I	-	-	-	-	xx	xxx		49 10%	19 4%
K	-	-	-	-	-	xxx	xxx		19 4%
L	-	-	-	-	-	xx	xxx	xxx	

x = $p < 0,05$, xx = $p < 0,01$, xxx = $p < 0,001$

In Tabelle 24 sind die Zweierkombinationen der Proteine C - L dargestellt. In der rechten Diagonalhälfte ist die tatsächliche Kombinationshäufigkeit absolut und in Prozenten angegeben. Die absoluten Werte sagen aus, wie oft es die Kombination XY insgesamt gibt. Die Prozentwerte beziehen sich auf das Gesamtmaterial von 511 Tieren.

In der linken Diagonalhälfte ist notiert, ob für die betreffende Kombination eine Signifikanz gefunden wurde. Diese Signifikanzen beruhen auf folgendem t-Test: Geht man davon aus, daß zwei Merkmale voneinander unabhängig sind, so kann durch die Multiplikation ihrer Häufigkeiten die Wahrscheinlichkeit für ihr kombiniertes Auftreten berechnet werden. Der t-Test wird nun zwischen den nach obiger Methode erwarteten und den gefundenen, tatsächlichen Kombinationshäufigkeiten durchgeführt.

Auffallend ist, daß signifikante Abweichungen nur im diagonalen Bereich auftreten. D.h. also, daß lediglich benachbarte Proteine signifikant häufiger auftreten als dies zu erwarten wäre.

5.3.5.3. Die Dreierkombinationen der löslichen Proteine

Ebenso wie bei den Zweierkombinationen wird bei den Dreierkombinationen verfahren.

In Abbildung 21 sind nur die signifikant häufigeren und nicht alle möglichen Dreierkombinationen dargestellt.

Der verstärkte Strich in der Spalte des jeweiligen Proteins bedeutet das Vorhandensein desselben. Durch waagrechtes Weiterlesen ersieht man die vorliegenden Dreierkombinationen.

5.4. Die Auswertung der Proteine als quantitatives Merkmal

Unter quantitativ ist hier der prozentuale Anteil des einzelnen Proteins an der Summe der löslichen Proteine eines Tieres zu verstehen.

5.4.1. Die Mittelwerte der löslichen Proteine

Die Mittelwerte und Standardabweichungen der löslichen Proteine A - L innerhalb der jeweiligen Rasse sind der folgenden Tabelle zu entnehmen.

Tabelle 25: Mittelwerte und Standardabweichungen
der Proteine A - L

Lösli. Prot.	D F		B r	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
A	22,03	11,96	18,19	11,65
B	44,98	13,74	51,42	12,57
C	9,57	5,05	6,39	3,43
D	7,72	4,80	8,96	4,06
E	10,23	3,78	11,77	3,41
F	9,43	3,36	8,96	3,31
G	4,67	2,85	5,11	2,77
H	3,17	6,77	3,33	6,77
I	2,25	1,21	1,98	1,10
K	1,71	1,01	1,82	0,97
L	1,48	0,80	1,46	0,11

DF = Deutsches Fleckvieh, Br = Braunvieh

Am stärksten ausgeprägt ist B, gefolgt von A. Die Proteine C, D, E und F kommen alle zwischen 6 und 10 % vor, wogegen die folgenden mit nur 1 - 5 % vertreten sind.

5.4.2. Verteilung der Proteine A - L

Wie sich die prozentualen Anteile der einzelnen Proteine verteilen, ist den folgenden Abbildungen zu entnehmen.

Abb. 22 - Abb. 32: Verteilungen der Proteine A - L

Auf der Ordinate ist die Anzahl der Tiere (n) und auf der Abszisse der prozentuale Anteil des jeweiligen Proteins aufgetragen.

Abb. 22: Protein A n = 511

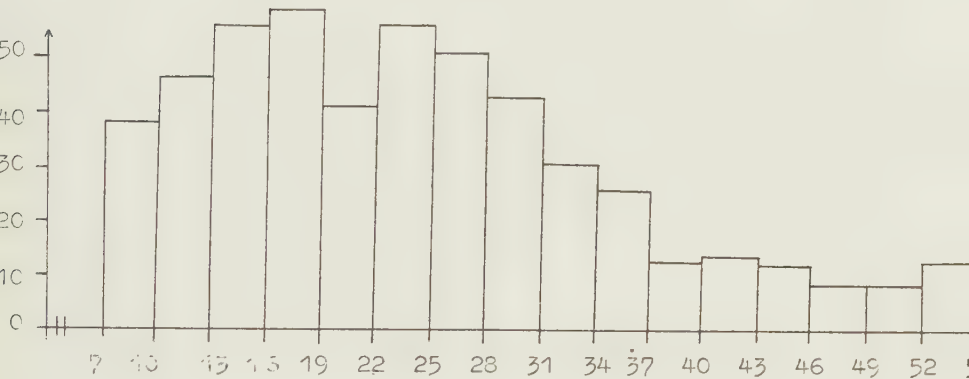


Abb. 23: Protein B n = 511

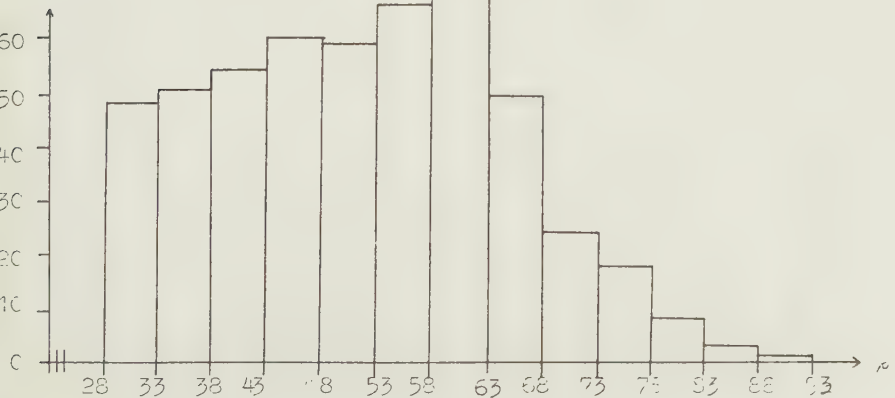


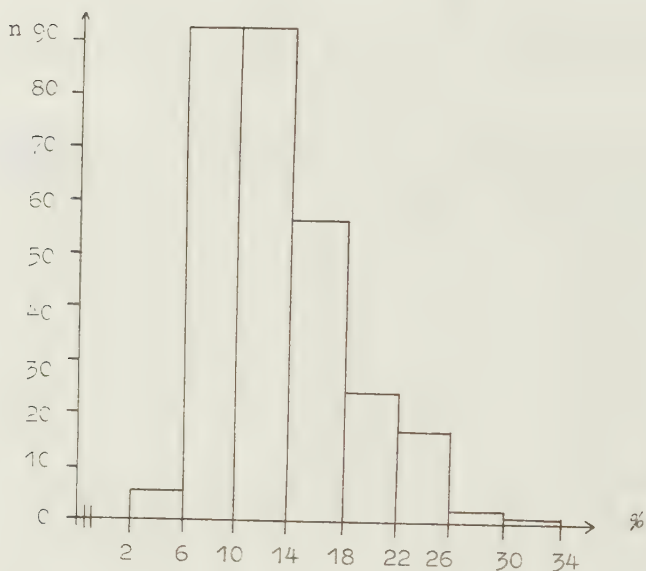
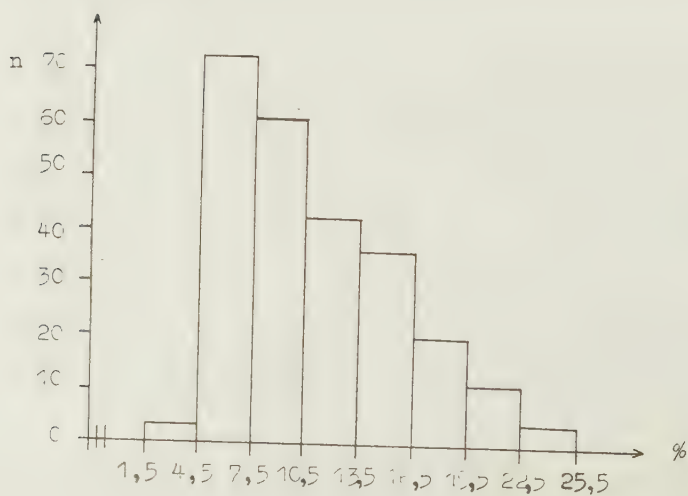
Abb. 24: Protein C $n = 289$ Abb. 25: Protein D $n = 248$ 

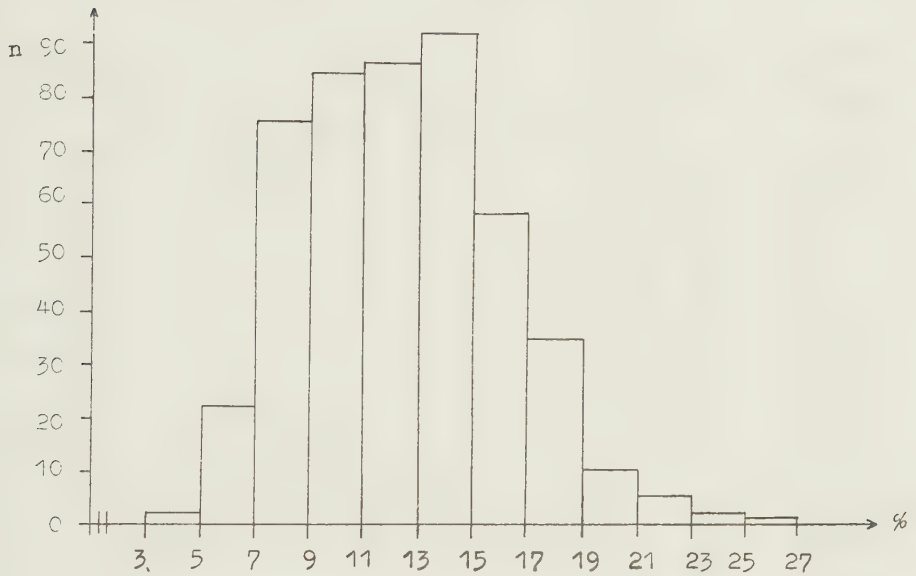
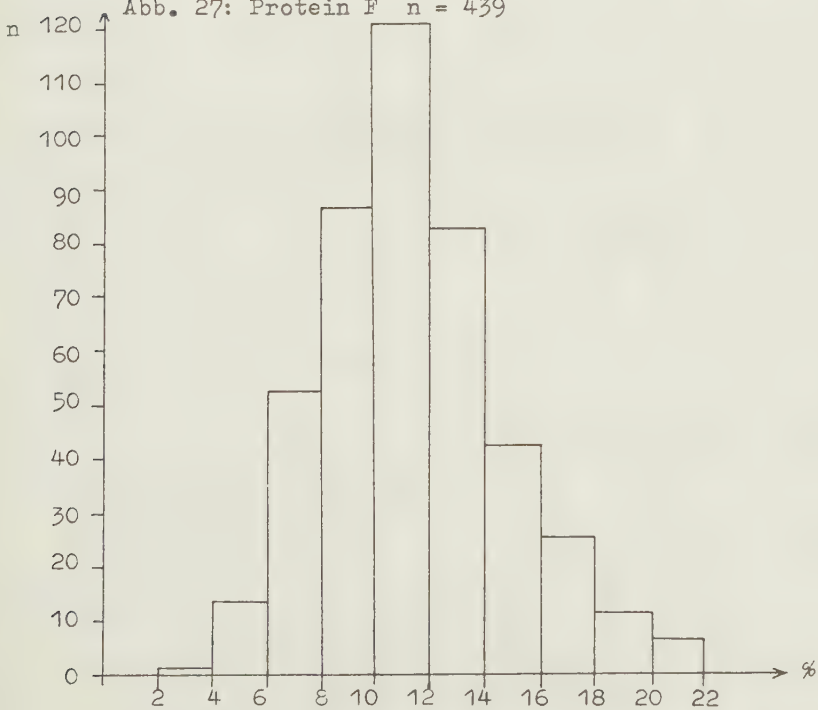
Abb. 26: Protein E $n = 470$ Abb. 27: Protein F $n = 439$ 

Abb. 28: Protein G n = 383

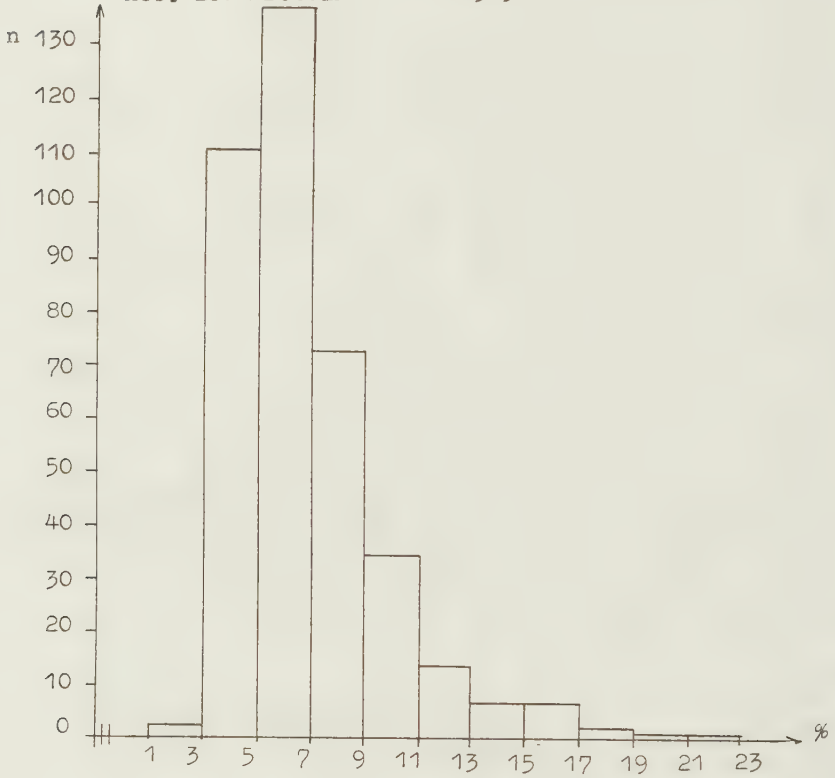


Abb. 29: Protein H n = 230

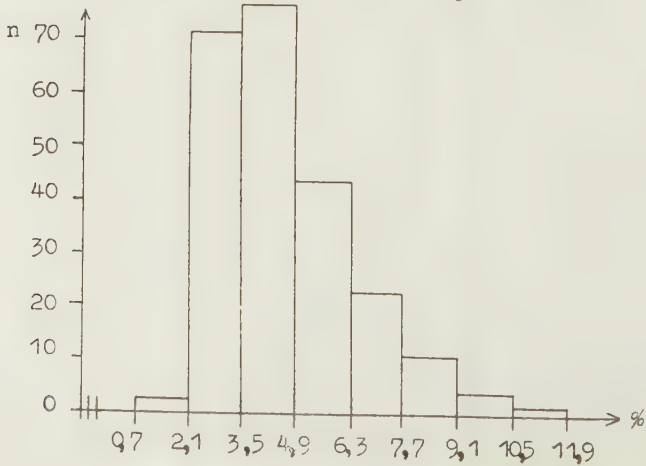
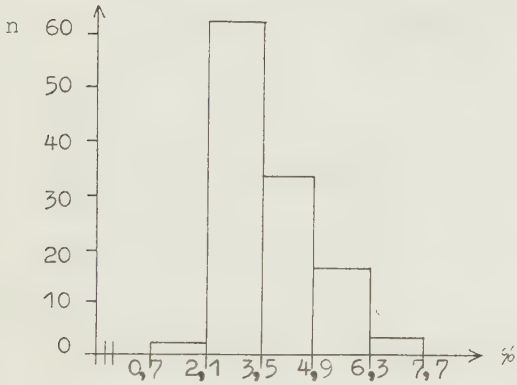
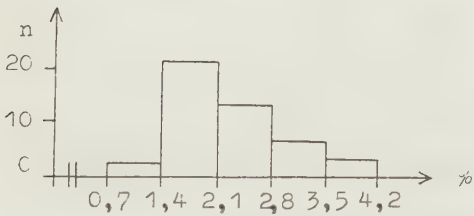
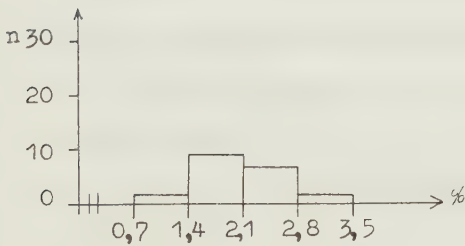


Abb. 30: Protein I $n = 116$ Abb. 31: Protein K $n = 49$ Abb. 32: Protein L $n = 19$ 

5.4.3. Der Einfluß von Rasse, Haltung und Lokalisation

Auch für die quantitativen Daten wurde untersucht, ob Einflüsse von seiten der Rasse, der Haltung oder der Lokalisation vorliegen.

Tabelle 26: Rasse-, Haltungs- und Lokalisationseinflüsse

	A	B	C	D	E	F	G	H
Rasse	xx	xx	xx	x	ns	ns	ns	ns
Haltung	xx	ns	ns	ns	ns	ns	xx	ns
Lokalis.	xx	x	x	xx	ns	xx	xx	xx

$$x = p < 0,05, \quad xx = p < 0,01$$

Aus Tabelle 26 ist zu entnehmen, daß sowohl die Rasse als auch die Lokalisation einen starken, die Haltung dagegen nur einen geringeren Einfluß auf den prozentualen Anteil der einzelnen Proteine ausüben.

5.4.4. Der Einfluß der Nachkommengruppen

Dieser Einfluß wird innerhalb Rasse untersucht.

Die Einflußfaktoren Haltung und Lokalisation werden bei der Frage nach dem Einfluß der Nachkommengruppen durch Korrekturfaktoren berücksichtigt.

Tabelle 27: Ergebnisse der Varianzanalyse über den
Einfluß der Nachkommengruppen für die
Proteine A - H ($\bar{x}$ und s siehe Tab.24)

Lösl.Prot.	D F	B r
A	ns	x
B	ns	ns
C	ns	x
D	ns	x
E	ns	ns
F	ns	ns
G	ns	ns
H	ns	ns

DF = Deutsches Fleckvieh, Br = Braunvieh, x = $p < 0,05$

Beim Deutschen Fleckvieh liegt für kein einziges Protein ein signifikanter Einfluß von seiten der Nachkommengruppen vor.

Beim Braunvieh scheinen dagegen die Proteine A, C und D in ihrer Ausprägung durch die Zugehörigkeit zu einer bestimmten Nachkommengruppe beeinflusst.

5.4.5. Der Einfluß des Körpergewichts

Da die Möglichkeit besteht, daß der prozentuale Anteil der einzelnen Proteine vom Körpergewicht beeinflusst

wird, sind in Tabelle 28 die Korrelationen zwischen dem Körpergewicht und dem jeweiligen prozentualen Anteil für das zugehörige Protein angegeben.

Tabelle 28: Korrelationskoeffizienten zwischen Körpergewicht und prozentualem Anteil der löslichen Proteine getrennt nach Rassen

Lösliche Proteine	Deutsches Fleckvieh		Braunvieh	
	n	r	n	r
A	406	0,0062	86	0,0754
B	406	0,0042	86	0,1664
C	230	0,0077	49	0,3367
D	192	0,0138	49	0,0798
E	374	0,0378	77	0,1385
F	358	0,0145	64	0,0563
G	305	0,0269	61	0,0335
H	180	0,0415	38	0,0683
I	98	0,1001	--	-,----

Wie Tab.28 zeigt,kann keine Beziehung nachgewiesen werden.

5.4.6. Der Einfluß der Jahreszeit

Die Mittelwerte der Proteine A - I in den einzelnen Schlachtmonaten werden durch eine Varianzanalyse verglichen. Das Ergebnis ist in Tabelle 29 dargestellt.

Tabelle 29: Ergebnis des Mittelwertvergleichs zwischen
den Schlachtmonaten für die Proteine A - I

Lösl.Prot.	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Signif.	ns	ns	ns	xx	ns	x	xx	xx	ns

$x = p < 0,05$, $xx = p < 0,01$

Für den prozentualen Anteil der Proteine D, F, G und H scheint der Schlachtmonat beeinflussend zu sein. In den folgenden Abbildungen ist dieser Einfluss graphisch dargestellt. Auf der Ordinate ist der prozentuale Anteil, auf der Abszisse der Schlachtmonat aufgetragen.

Abb. 33: Einfluß des Schlachtmonats auf den prozentualen Anteil von D

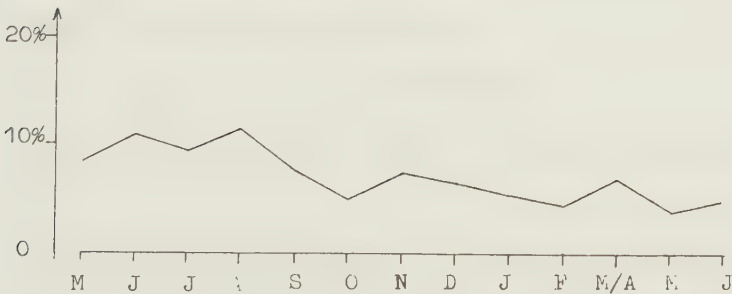


Abb. 34: Einfluß des Schlachtmonats auf den prozentualen Anteil von F

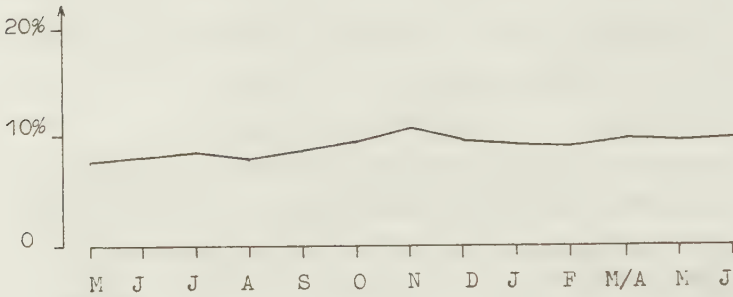


Abb. 35: Einfluß des Schlachtmonats auf den prozentualen Anteil von G

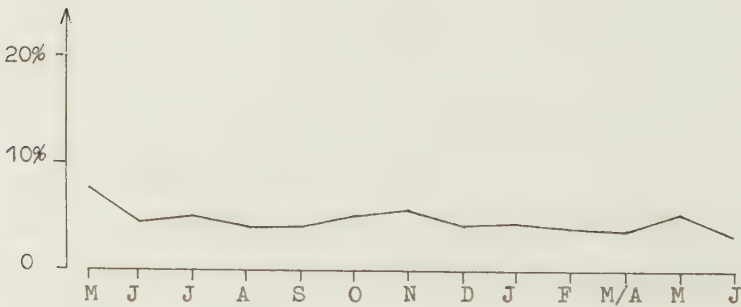
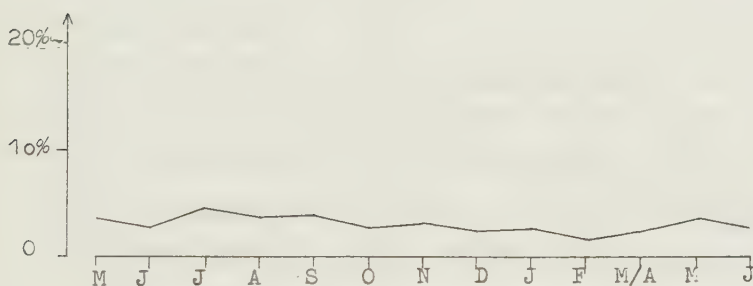


Abb. 36: Einfluß des Schlachtmonats auf den prozentualen Anteil von H



Aus den Abbildungen 33 - 36 ist zu ersehen, daß die Unterschiede zwischen den einzelnen Monaten, die signifikante Abweichungen hervorrufen, zufällig und nicht saisonal sind. Es besteht somit kein systematischer Einfluß, so daß die Annahme der Einflußnahme der Jahreszeit auf den prozentualen Anteil der löslichen Proteine abgelehnt werden muß.

6. Diskussion und Schlußfolgerungen

6.1. Die löslichen Proteine als qualitatives Merkmal

Bei der Betrachtung der Verteilung der Proteine zeigt sich, daß die Häufigkeiten der Proteine C - L eine Kurve ergeben, die der Normalverteilung ähnelt (siehe Abb. 19). Die Proteine E und F mit mittlerer Molekülgröße treten am häufigsten auf. Eine Erklärung dafür kann z.Z. nicht gegeben werden.

Im folgenden wird die Einflußnahme von Haltung, Lokalisation, Rasse und Nachkommengruppe diskutiert.

Haltung:

Beim Fleckvieh ist für das Protein I ein signifikanter Haltungseinfluß nachweisbar. Bemerkenswert ist, daß alle anderen Proteine ebenso wie I häufiger auf Vollspalten- als auf Teilspaltenboden vorkommen. Das könnte darauf beruhen, daß auf Grund der höheren Feuchtigkeit auf Teilspaltenboden die Proteine stärker aus dem Klauenhorn ausgewaschen werden. Das müßte sich auch in der absoluten Menge, d.h. der Quantität der vorhandenen Proteine zeigen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden aber keine Bestimmungen der absoluten Proteinemengen durchgeführt, sondern nur die prozentuale Aufteilung des löslichen Gesamtproteins auf die Proteine A - M untersucht.

Lokalisation:

Der Lokalisationseinfluß ist beim Fleckvieh für D, F, G, K und L signifikant, beim Braunvieh dagegen für kein einziges Protein, wahrscheinlich wegen der geringen Tierzahl. Bei beiden Rassen kommen C, D, K und L häufiger im Wandhorn, E, F, G und H dagegen häufiger im Klauenspitzenhorn vor. Die durchschnittliche Anzahl der Proteine ist, wie Tabelle 19 zeigt, im Wand- und Klauenspitzenhorn in etwa gleich. Ein systematischer

Einfluß der Lokalisation, der durch stärkeres Auswaschen in der Klauenspitze verursacht sein könnte, liegt also nicht vor.

Dagegen zeigen Wand und Spitze signifikante Unterschiede bezüglich der relativen Häufigkeit der einzelnen Proteine. Es ist deshalb zu vermuten, daß im Verlauf des Klauenwachstums, das vom Kronsaum Richtung Klauenspitze erfolgt, eine Änderung der Proteinstruktur stattfindet.

Rasse:

Für die Proteine F und I kann ein signifikanter Rassen einfluß nachgewiesen werden. Außer dem Protein D treten alle anderen löslichen Proteine häufiger beim Deutschen Fleckvieh auf. Dies deutet auf eine genetische Determination hin. Die Auswertungen wurden deshalb getrennt nach Rassen durchgeführt.

Nachkommengruppe :

Zwischen den Nachkommengruppen können für die Proteine A und B keine Unterschiede auftreten. Sie kommen bei allen Tieren vor. Dagegen sind für die Proteine C bis M aus Tabelle 14 deutliche Unterschiede zu entnehmen. Durch einen χ^2 -Test kann dieser Eindruck beim Deutschen Fleckvieh bestätigt werden. Es bestehen demnach für die Proteine C - H signifikante Unterschiede zwischen den Nachkommengruppen. Dies deutet auf eine genetische Determination hin. Es kann sich dabei allerdings um keinen einfachen Erbgang handeln, da sich dieser in der Proteinfrequenz der Nachkommen erkennen ließe. Wie Tabel-

le 15 zeigt, sind die Proteine I, K und L nicht berücksichtigt, weil auf Grund ihres geringen Vorkommens ein χ^2 -Test nicht möglich ist. Sie fallen dadurch auf, daß sie in einigen Nachkommengruppen bis zu 30 % vorkommen, in anderen dagegen nicht. Nimmt man einen rezessiven Erbgang an, so wären sie in bestimmten Nachkommengruppen mit mindestens 50 % zu erwarten. Dies zeigt, daß auch bei diesen Proteinen kein einfacher Erbgang nachgewiesen werden kann.

Bisher wird jedes Protein einzeln betrachtet und ausgewertet. Wichtig erscheint aber auch das Zusammenwirken dieser Proteine.

Durchschnittliche Anzahl der Proteine pro Tier:

Bei der Auswertung der Anzahl der Proteine, also unabhängig von der Art des Proteins, zeigt sich, daß kein Tier lediglich eines oder drei Proteine aufweist. Das Fehlen von Tieren mit einem Protein kann dadurch erklärt werden, daß die Proteine A und B stets zusammen, bei allen Tieren vorkommen.

Das Fehlen von Tieren mit drei Proteinen bedeutet, daß die Kombination eines der Proteine C - M allein mit A und B nicht möglich ist. Zwischen den Proteinen C - M muß demzufolge eine Verknüpfung bestehen, ebenso wie sie zwischen A und B vorliegt. Deshalb werden zusätzlich die Proteinkombinationen überprüft.

Proteinkombinationen:

Bei der Untersuchung der Proteilmuster zeigt sich, daß die am häufigsten auftretenden Kombinationen durch zwei Mechanismen zustandekommen:

- durch Hinzufügen eines weiteren Proteins,
- durch die Proteine C und D, die gemeinsam vorkommen, gemeinsam fehlen und alternierend vorkommen können.

Bei beiden Mechanismen haben sowohl die Rasse als auch die Haltung keinen bestimmenden Einfluß, wogegen die unterschiedlichen Lokalisationen zur Ausbildung dieser Kombinationen führen.

Zweierkombinationen:

Bei der Untersuchung der Zweierkombinationen der Proteine C - M zeigen sich signifikante Abweichungen zu dem erwarteten Auftreten dieser Kombinationen nur bei direkt benachbarten Proteinen. Eine Erklärung hierfür ergibt sich aus dem Prinzip der Elektrophorese: Je näher sich zwei Proteine sind, desto ähnlicher sind sie sich in ihrer chemischen Struktur. Es ist natürlicherweise zu erwarten, daß zwei chemisch ähnliche Proteine eher zusammen auftreten als zwei unterschiedliche.

Dreierkombinationen:

Bei den Dreierkombinationen dagegen treten nicht nur benachbart liegende Proteine signifikant häufiger zusammen auf als dies zu erwarten wäre. Dies kann nicht allein mit der chemischen Ähnlichkeit der Proteine erklärt werden. Man muß wohl davon ausgehen, daß hier

Kombinationen vorliegen, die auf andere Ursachen zurückzuführen sind; dies könnte in Zusammenhang mit der vermuteten Strukturänderung stehen. Diese Kombinationen sind in Abbildung 21 mit einem Pfeil gekennzeichnet.

6.2. Die löslichen Proteine als quantitatives Merkmal

Die Verteilungen der einzelnen Proteine sind sehr unterschiedlich. Die Proteine A und B weisen eine sehr große Variationsbreite auf; im Gegensatz dazu die Proteine C, D, H und I, die mit einer im Vergleich zu A und B geringen Variationsbreite vorkommen. E, F und G sind annähernd normal verteilt. Die Proteine K und L kommen nur sehr selten vor.

Rasse und Lokalisation üben auf den prozentualen Anteil fast aller Proteine einen Einfluß aus, dagegen kann der Einfluß der Haltung nur bei zwei Proteinen nachgewiesen werden.

Beim Deutschen Fleckvieh kann kein signifikanter Einfluß von seiten der Nachkommengruppen nachgewiesen werden. Beim Braunvieh dagegen scheinen die Proteine A, C und D durch die Zugehörigkeit zu einer bestimmten Nachkommengruppe beeinflusst. Bei der Bewertung dieser Aussage sollte allerdings folgendes in Betracht gezogen werden: Beim Fleckvieh wurden 421 Tiere, die von 34 Vätern abstammen, untersucht. Beim Braunvieh liegt hingegen eine geringere Nachkommengruppenzahl und eine geringere Besetzung der einzelnen Nachkommengruppen vor.

6.3. Schlußfolgerungen

Die Proteine A und B, die immer vorhanden sind, unterliegen in ihrer Ausbildung keinen äußeren Einflüssen, in ihrem prozentualen Anteil werden sie aber von der Haltung (A) und der Lokalisation (A und B) beeinflußt.

Bei den Proteinen C - M liegen qualitative und quantitative Unterschiede zwischen den Rassen vor. Dies spricht ebenso wie das Vorliegen von qualitativen Unterschieden zwischen den Nachkommengruppen für genetische Ursachen.

Die qualitativen und quantitativen Unterschiede, die durch die Lokalisation hervorgerufen werden, hängen wohl mit dem unterschiedlichen Grad der Keratinisierung zwischen Wand- und Klauenspitzenhorn zusammen (Maciejewska, M. und Fröhlich, A., 1977).

Das Vorhandensein der Proteine scheint somit insgesamt gesehen genetische Ursachen zu haben, wobei allerdings im Laufe des Hornwachstums eine Strukturänderung einzelner Proteine eintritt. Auf den prozentualen Anteil der Proteine nehmen dagegen äußere Faktoren (Haltung) einen deutlichen Einfluß.

Durch einen Vergleich mit morphologischen und Abrieb-Untersuchungen (Schneider, 1980) und histologischen Untersuchungen (Walz, 1979) sollte später festgestellt

werden, ob lösliche Proteine von Einfluß auf die Klauen-
enstabilität sind und ob sie, eventuell im Zusammenhang
mit diesen Untersuchungen als Hilfsmittel zur Selektion
auf widerstandsfähige Klauen dienen können.

7. Zusammenfassung

Mit einer speziell für Klauen entwickelten Methodik der
Diskelektrophorese wird das Klauenhorn von 511 Bullen
untersucht. 421 Tiere, die von 34 Vätern abstammen, ge-
hören der Rasse Deutsches Fleckvieh und 90 Tiere, die
von 10 Vätern abstammen, der Rasse Braunvieh an.
Von 33 Tieren werden vier Klauen, eine von jeder Ex-
tremität, untersucht. Da zwischen den Extremitäten
keine Unterschiede gefunden werden, wird im folgen-
den nur noch eine Klaue von jedem Tier untersucht.

Es werden zwischen 2 und 12 löslicher Proteine nachge-
wiesen. Sie werden mit den Großbuchstaben A - M be-
zeichnet, wobei A die am weitesten und M die am wenig-
sten weit gewanderte Bande darstellt. Diese Proteine
können sowohl als qualitatives als auch als quantita-
tives Merkmal betrachtet werden.

Folgende Einflußfaktoren finden Berücksichtigung:

- Rasse ,
- Haltung,
- Lokalisation (Wandhorn und
Klauenspitzenhorn),

- Nachkommengruppe .

Qualitative Ergebnisse:

- Die Proteine A und B sind stets vorhanden, wogegen bei den Proteinen C - M qualitative Unterschiede zwischen den Tieren bestehen.
- Da ein deutlicher Rasseeinfluß besteht, erfolgen die Auswertungen getrennt nach Rassen.
- Haltung und insbesondere Lokalisation sind ein für die Ausbildung der Proteine entscheidender Faktor.
- Zwischen den Nachkommengruppen bestehen bezüglich der Proteine C - H signifikante Unterschiede; für die Proteine L - M kann dies nicht nachgewiesen werden.
- Zwischen den Proteinen C - M treten bestimmte bevorzugte Dreierkombinationen auf.
- Die unterschiedlichen Proteinmuster werden von der Lokalisation (Wandhorn, Klauenspitzenhorn) beeinflusst.

Quantitative Ergebnisse:

- Für den prozentualen Anteil der einzelnen Proteine sind Rasse, Haltung und hauptsächlich die Lokalisation beeinflussende Faktoren.
- Zwischen den Nachkommengruppen bestehen keine signifikanten Unterschiede.

Die Ausbildung der Proteine scheint somit genetische Ursachen zu haben, wobei im Lauf des Hornwachstums wahrscheinlich Strukturänderungen eintreten. Auf den prozentualen Anteil der einzelnen Proteine nehmen dagegen äußere Faktoren einen deutlichen Einfluß.

8. Summary

By a special method of discelectrophoresis, developed for claws, the horny tissue of claws from 511 bulls are analysed. 421 animals, descending from 34 sires, belong to the breed "Deutsches Fleckvieh" and 90 animals descending from 10 sires, belong to the breed "Braunvieh". 33 animals are chosen for testing 4 claws, one from each extremity. Between the 4 extremities no differences are found. Thus for further analysis only one claw from each animal is tested.

Between 2 and 12 soluble proteins are found in the tested claws. Proteins are marked with the letters A - M; A represents the band that migrated the furthest distance, M the one that migrated the shortest distance. Proteins A - M can be considered both as qualitative and as quantitative characteristics.

The following influences are investigated:

- breed
- floor of stable
- localisation (tip of the claw, side wall of the claw)
- progeny group

Qualitative results:

- Proteins A and B are always present. Regarding the incidence of proteins C - M there exist qualitative

differences among the animals.

- A significant influence of the breed on the frequency of proteins is found. Thus, further analysis are carried out within breeds.
 - The type of floor and the localisation have a significant influence on the frequency of proteins.
 - Among progeny groups significant differences for the proteins C - H are found, but not for the proteins L - M .
- Combinations between two and three proteins are tested:
- For the proteins C - K the frequency of some combinations of three proteins is significant different.
 - The different protein patterns can be attributed to the influence of localisation.

Quantitative results:

- Breed, type of floor and especially localisation have a significant influence on the percentage distribution of proteins.

- Among progeny groups no differences could be found.

The development of proteins seems to be caused by genetical factors, but during the growth of the horn some changes take place. External factors significantly influence on the percentage distribution of the proteins.

LITERATUR

BLOCK, R.J. (1951)

Chemical classification of keratine
Ann. N.Y. Acad.Sci. 53, 608 - 612

BREUER, D. (1964)

Klauenkrankheiten bei Zuchtstieren
Tierärztl.Umschau 19, 589 - 592

DAVIES, B.J. (1964)

Discelektrophoresis Part II
Ann. N.Y. Acad.Sci. 121, 321 - 518

GILLESPIE, J.M. (1962 a)

The isolation and properties of some soluble proteins
from wool

V. The isolation of the high sulphur protein SCMKB2
Austral.J.biol.Sci. 16, 241 - 251

GILLESPIE, J.M. HARRAP, B.S. (1962 b)

The isolation and properties of some soluble proteins
from wool

VI. The physicachemical properties of SCMKB2
Austral J.biol.Sci. 16, 252 - 258

GILLESPIE, J.M. (1962 c)

The isolation and properties of some soluble proteins
from wool

VII. The heterogeneity of the high-sulphur proteins
Austral J.biol. Sci. 16, 259 - 280

GILLESPIE, J.M. (1964 a)

The isolation and properties of some soluble proteins
from wool

VIII. The proteins of copper-deficient wool

Austral.J.biol.Sci. 17, 282 - 300

GILLESPIE, J.M. REIS, P.J. (1964 b)

The isolation and properties of some soluble proteins
from wool

IX. The proteins in wools of increased sulphur content

Austral.J.biol.Sci. 17, 548 - 560

GILLESPIE, J.M. (1968)

Evidence for common protein constituents in horny and
fibrous keratins

Austral. biochem.Soc., 1, 29

GILLESPIE, J.M. (1972)

Proteins, rich in Glycin and Tyrosin from keratins

Comp. biochem. Physiol., 41B, 723 - 734

GILLESPIE, J.M. FRENKEL, M.J. (1974)

The diversity of keratins

Comp. biochem. Physiol., 47 B, 339 - 346

GILLESPIE, J.M. MARSHALL, R.C. (1977)

Proteins of the hard keratins of Echidna, Hedgehog,
Rabbit, Ox and Man

Austral.J. biol. Sci., 30, 401 - 409

GÜNTHER, M. KÄSTNER, R. SCHLEITER, H. (1968)

Vorkommen und Verhütung von Klauen- und Gliedmaßen-
krankungen bei Spaltenbodenaufstallung

Mh. Veterinärmed. 23, 861 - 864

HARRAP, B.S. GILLESPIE, J.M. (1963)

A further study on the extraction of reduced proteins
from wool

Austral. biol. Sci., 16, 241 - 246

KIRSTE, G. (1965)

Förderung und Kontrolle der Klauenpflege beim Rind in
der Bundesrepublik Deutschland - ein Gebot des Tier-
schutzes und der Wirtschaftlichkeit

Hannover: Diss.med.vet.

KNEZEVIC, P. (1961)

Einfluß der Klauenpflege auf die Samenproduktion von
Stieren

Wiener tierärztl. Mschr. 48, 305 - 314

LINDLEY, H. (1947)

Chemical constitution of keratin

Nature, 160, 190 - 191

MACIEJEWSKA, M. FRÖHLICH, A. (1977)

Soluble protein compounds accompanying keratins

Bull. Acad. Pol. Sci. 25, 197 - 201

MARSHALL, R.C. GILLESPIE, J.M. (1977)

The keratin proteins of wool, horn and hoof from sheep

Austral.J.biol. Sci., 30, 389 - 400

MATOLTSY, A.G. BALSAMO, C.A. (1955)

The components of the cornified epithelium of the human skin

J. invest. Derm., 25, 71 - 76

MATOLTSY, A.G. HERBST, M.D. (1956 a)

A study of human epidermal proteins

J.invest. Derm. 26, 339 - 448

MATOLTSY, A.G. HERBST, M.D. (1956 b)

Observations on urea-extractable substances of the human abdominal epidermis

J.invest. Derm. 27, 263 - 277

MATOLTSY, A.G. MATOLTSY, M.N. (1963)

A study of the soluble proteins of normal and pathologic horny tissues by a modified disc elektrophoresis technic

J.invest. Derm. 41, 255 - 257

MATOLTSY, A.G. (1964)

Soluble proteins in different levels of the epidermis
J.Invest. Derm., 42, 11 - 114

MAURER, H.R. (1968)

Disk - Elektrophorese
Walter de Gruyter, Berlin

PFLUG, W. (1978)

Die Anpassung des Fleckviehs in Süd- und Südwestafrika,
unter besonderer Berücksichtigung der Klauen
München: Diss.med.vet.

SCHNEIDER, P. (1979)

Persönliche Mitteilung

SCHNEIDER, P. (1980)

Persönliche Mitteilung

THOMPSON, E.O.P. O'DONNELL, I.J. (1964)

Studies on reduced wool
Austral.J.biol.Sci., 17, 277 - 281

WALZ, H. (1979)

Histologische Untersuchungen zur Erfassung der klau-
enhornqualität beim Rind
München: Diss. med. vet.

WARD, H.W. LINDGREN, H.P. (1954)

The formation, composition and properties of keratins
Advances prot.chem., 9, 241 - 295

WILKENS, H. (1964)

Zur makroskopischen und mikroskopischen Morphologie
der Rinderklaue mit einem Vergleich der Architektur
von Klauen- und Hufröhrchen

Zbl.f.Vet.med. A 11, 163 - 234

WOODS, E.F. (1971)

Chromatography of the soluble proteins from feathers
Comp. biochem. Physiol., 39 A, 325 - 331

ZIETSMANN, O. (1918)

Das Zehenendorgan der rezenten Säugetiere: Krallen,
Nagel, Huf

Schweiz.Arch.Tierheilkunde, 6, 241 - 272

D a n k s a g u n g

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. H. K r ä u ß l i c h für die Überlassung des Themas, die wertvollen Hinweise und die mir großzügig gewährte Unterstützung.

Herrn Professor Dr. K. O s t e r k o r n danke ich recht herzlich für die Erstellung der Programme und die stets freundliche Anleitung.

Ebenso danke ich Herrn Dr. G r a f , welcher mir stets aufgeschlossen und hilfreich zur Seite stand.

Der Tierzuchtforschung e. V. bin ich für die finanzielle Unterstützung dankbar, ohne die diese Arbeit nicht hätte angefertigt werden können.

LEBENS LAUF

Name: Heribert, Werner Raschel
Geburtsdatum: 13. März 1952
Geburtsort: München
Eltern: Heribert Raschel, Kaufmann
Barbara Raschel, geb. Koller

1958 Eintritt in die Volksschule München-Haidhausen
1961 Übertritt in die Volksschule München-Schwabing
1963 Eintritt in das Gisela-Gymnasium München
1972 Zeugnis der Reife
1972 Beginn des Studiums der Tiermedizin an der
Ludwig-Maximilians-Universität München
1978 Abschluß der Tierärztlichen Prüfung
1978 Beginn der Dissertation am Institut für
Tierzucht und Tierhygiene
~~1978~~ Approbation als Tierarzt

